BAND 24, HEFT 3 SEPTEMBER 1955

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. Baldacci, Mailand / Prof. Dr. H. Braun, Bonn / Prof. Dr. W. B. Brierley, Keswick-Cumberland / Prof. Dr. Takewo Hemmi, Kyoto / Oberreg.-Rat i. R. Dr. E. Köhler, Braunschweig / Prof. Dr. K. O. Müller, Canberra / Prof. Dr. H. M. Quanjer, Wageningen Prof. Dr. Tr. Savulescu, Bukarest / Prof. Dr. E. C. Stakman, St. Paul

herausgegeben von den Professoren

E. Gäumann Zürich

M. Klinkowski Aschersleben

H. Richter Berlin-Dahlem

Mit 65 Abbildungen

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 24, Heft 3, *S. 245—352, Berlin 1955*

NETHERLANDS MYCOLOGICAL INSTITUTE 16 SEP 1955

INHALT

Abhandlungen

BUTIN, H., Über den Einfluß des Wassergehaltes der Pappel auf ihre Resistenz gegenüber *Cytospora chrysosperma* (Pers.) Fr. Mit 8 Abb. 245

BAZZIGHER, G., Über tannin- und phenolspaltende Fermente von *Endothia parasitica*. Mit 9 Abb. 265

KOVÁCS, A., Über die Ursachen der unterschiedlichen Resistenz der Zuckerrübensorten gegen *Cercospora beticola* Sacc. Mit 5 Abb. 283

NIKLOWITZ, W., Histologische Studien an Reblausgallen und Reblausabwehrnekrosen (*Viteus vulpinae* CB. auf *Vitis vinifera* und *Vitis riparia*). **Mit 31 Abb.** 299

PAUL, H. L. und BODE, O., Elektronenmikroskopische Untersuchungen über Kartoffelviren. II. Vermessung der Teilchen von drei Stämmen des Rattle-Virus. Mit 12 Abb. 341

Besprechungen 352

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.
„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.
Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Herausgeber: Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstraße 2, Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. Richter, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 19.
Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstraße 44/47, oder an einen der drei Herausgeber.
Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. Richter, Berlin-Dahlem. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. Richter vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die drei ersten Bogen honoriert; Dissertationen und Buchbesprechungen sind honorarfrei.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 8 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 30 Druckbogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,— DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Abonnementspreis dieses Heftes 20,— DM Einzelpreis 22,— DM

Biologische Bundesanstalt, Institut für forstliche Mykologie und Holzschutz, Hann. Münden

Über den Einfluß des Wassergehaltes der Pappel auf ihre Resistenz gegenüber *Cytospora chrysosperma* (Pers.) Fr.[1])

Von

H. Butin

Mit 8 Abbildungen

Inhalt: Einleitung. — 1. Methodik. a) Der Pilz und die Infektionsmethode. b) Die Wirtspflanze und die Untersuchungsmethode. c) Mikroskopische Technik und Färbemethoden. — 2. Wasserbewegung in isolierten Pappelzweigstücken. — 3. Rindeninfektion in Abhängigkeit von der Wundheilung. a) Infektionsversuche. b) Mikroskopische Untersuchungen des Wundgewebes. — 4. Myzelwachstum in Abhängigkeit vom Wassergehalt. — 5. Ausbreitungsresistenz durch Barrikadengewebe. — 6. Blattnarbeninfektion. a) Anatomie und Entwicklung der Blattnarbe. b) Blattnarbeninfektion in Abhängigkeit vom Wasserverlust. c) Blattnarbeninfektion in Abhängigkeit von Kälteeinwirkung. — 7. Besprechung der Ergebnisse. — Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

Einleitung

Cytospora chrysosperma (Pers.) Fr., die seit längerem schon als Rindenpilz der Pappel bekannt ist, hat besonders in der letzten Zeit durch den gesteigerten Pappelanbau erhöhte Aufmerksamkeit auf sich gezogen. Über die Bedingungen für ihr Auftreten bestanden bis vor kurzem noch Unklarheiten insofern, als man den Pilz einmal auf die Seite der echten Parasiten stellte (Münch, 1910; Moss, 1922), ein anderes Mal ihn als Schwächeparasiten und Saprophyten ansprach. Eine Zusammenfassung der wichtigsten Literaturangaben über diese Fragen gibt Schmidle (1953 a).

Nach unseren heutigen Kenntnissen geht einem *Cytospora*-Befall stets eine erhebliche Schwächung der Pappelpflanze voraus. Die Ursache für einen solchen physiologischen Schwächezustand wird übereinstimmend von Münch (1910), Long (1918), Schreiner (1931), Müller-Stoll und Hartmann (1910) sowie Schmidle (1953 a) in einem „Wassermangel" der Pflanze gesehen.

[1]) Die Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft auf Veranlassung von Herrn Professor Dr. Zycha durchgeführt.

Nähere Angaben über das Verhältnis von Wasserverlust der Wirtspflanze und dem Vordringen des Pilzes sind in der Literatur jedoch nur spärlich zu finden. Es fehlt ein feiner Maßstab für die Beurteilung der Krankheitsbereitschaft; ferner unterliegt die Feststellung eines Wassermangels den verschiedensten Vorstellungen, in welcher Weise die Pflanze dadurch anfälliger und weniger widerstandsfähig wird. MÜNCH (1909) versuchte die Idee von v. TUBEUF zu bestätigen, daß nicht ein hoher Wasserverlust als solcher den Pilz am Eindringen in Rinde und Holz hindere, sondern mangelnder Sauerstoff. RUBIN und ARZICHOWSKAJA (1953) sehen die bei Wassermangel absinkende Resistenz in der Änderung biochemischer Faktoren der Pflanze begründet. Eine andersartige Resistenzform durch die Bildung von Kork, Verholzungen und Wundperidermbildung faßt GÄUMANN (1953) unter dem Begriff der „Mechanischen Abwehrreaktionen" zusammen, deren Abhängigkeit vom Wasserfaktor KÜSTER (1925) angedeutet hat.

Die histogenen Bildungen und ihre Bedeutung für einen Wundverschluß und für die Abriegelung einer Pilzinfektion sind als Gegenstand der vorliegenden Arbeit gewählt worden. Es kam hierbei vor allem darauf an, die mechanischen Abwehrreaktionen in Abhängigkeit vom Wassergehalt der Pappelpflanzen zu untersuchen. Weiterhin sollte die Beziehung zwischen Wundperidermbildung und Befallshäufigkeit durch Infektionsversuche geklärt werden. Bei Infektionen durch *Cytospora*, wie sehr wahrscheinlich auch durch andere pflanzenparasitische Pilze, spielen solche Vorgänge in der Pflanze offenbar eine große Rolle, so daß mit der Behandlung dieses Themas ein weiterer Beitrag zum Resistenzproblem geliefert werden kann.

1. Methodik

a) Der Pilz und die Infektionsmethode

Als Material für die Infektionsversuche diente der Pilz *Cytospora chrysosperma* (Pers.) Fr., der im obengenannten Institut von befallenen Pappelzweigen unter der Bezeichnung C 201 im Jahre 1952 isoliert und kultiviert wurde. Der Pilz wurde auf Malzagar (3 % Malzextrakt, 2 % Agar) in Petrischalen, die im Brutschrank bei einer Temperatur von 23 ° C aufgestellt waren, jeweils aus Sporen herangezogen und bei einem Alter von 8 bis 14 Tagen für die Infektionen verwendet. Bei Myzelinfektionen wurden myzelüberwachsene Agarscheibchen mit einem Korkbohrer von 3 mm Durchmesser aus einer Agarplatte ausgestochen und mit der Myzelseite auf die Wunde gelegt. Neben diesen Myzelinfektionen wurden Sporeninfektionen mit dem gleichen Pilzstamm C 201 durchgeführt. Hierzu wurden Reinkulturen in Erlenmeyerkolben auf Weizen und Pappelzweigstückchen im Brutschrank bei 23 ° C herangezogen. Nach ungefähr vier bis sechs Wochen hatten sich auf den Pappelstückchen zahlreiche Pykniden gebildet. Die herausgetretenen orangefarbenen Sporenranken wurden abgenommen und kurz vor jedem Impfversuch in einigen Tropfen Wasser aufgeschwemmt. Diese Sporensuspension wurde mit einer Pipette in kleinen Tröpfchen auf die zu infizierende Wunde gebracht. Bei den Versuchen, die zur Prüfung der Keimungsgeschwindigkeit auf Malzagarplatten angesetzt waren, verwendeten wir eine Sporensuspension nach gleicher Herstellungsweise.

Da *Cytospora chrysosperma* ein Wundparasit ist, war die Verwundung der Versuchspflanze eine Voraussetzung für die Infektion. Zu allen Infektionsversuchen wurden daher keilförmige Einschnitte von 0,6 cm Länge in

die Rinde von Pappelzweigabschnitten gemacht, so daß ein myzelbewachsenes Agarscheibchen dem abstehenden Rindenteil leicht untergeschoben werden konnte.

b) Die Wirtspflanze und die Untersuchungsmethode

Als Unterlage für die Infektionen verwendeten wir Stamm- und Zweigabschnitte drei- bis vierjähriger Pflanzen von *Populus deltoides* aus einem Kamp des Forstamtes Kattenbühl (Hann.Münden). Die Länge der Pappelabschnitte betrug 10 cm, die Dicke 1,0 bis 1,5 cm. Zur Durchführung der Versuche war es erforderlich, die Pappelabschnitte verschieden stark auszutrocknen. Sollte ein bestimmtes Wasserdefizit erreicht werden, so ließen wir die Zweigstücke so lange offen an der Luft liegen, bis der gewünschte Wasserverlust eingetreten war. Die Größe des Wasserverlustes wurde hierbei gravimetrisch bestimmt.

Die Aufbewahrung dieser so vorbehandelten Zweigstücke erfolgte in 1½-Ltr.-Weckgläsern, in denen durch Einlegen feuchter Filtrierpapierstreifen eine hohe Luftfeuchtigkeit eingestellt werden konnte. Diese Versuchsanordnung sollte im wesentlichen einen weiteren Wasserverlust verhindern. Gewichtskontrollen zeigten, daß sich praktisch der Wassergehalt der so aufbewahrten Pappelzweige nicht veränderte. Durch Aufstellen der Gefäße in temperaturkonstanten Räumen wurden weiterhin eine Kondensation von Wasserdampf und Feuchtigkeitsschwankungen vermieden.

Der Infektionserfolg wurde nach dem Vorhandensein bzw. dem Fehlen von Nekrosen ausgewertet. Bei den Laboratoriumsversuchen mit verschieden wassergesättigten Pappelabschnitten hatte es sich herausgestellt, daß entweder eine Infektion zur stetig sich ausbreitenden Nekrose führte und damit den ganzen Pappelabschnitt befiel oder daß sie überhaupt nicht zum Haften kam. Bei einem solchen negativen Infektionserfolg zeigte die Infektionsstelle keinerlei Unterschied zu einer unbeimpften Wunde. Übergangsbildungen zu positiven Infektionserfolgen in dem Sinne, daß Nekrosen erst nach einer Ausbreitung von 1 cm abgeschlossen wurden, haben wir bei den Infektionsversuchen nicht beobachten können.

Andersartig verlief jedoch der Infektionserfolg an solchen nekrotischen Pappelabschnitten, deren Wasserverhältnisse nachträglich durch Zufuhr von Feuchtigkeit wieder auf eine optimale Höhe gebracht worden war. Hier zeigten sich Abriegelungen nekrotischer Rindenteile gegenüber gesunden Geweben, so, wie es vielfach auch im Freiland beobachtet wird. Den Nachweis eines positiven Infektionserfolges brachten weiterhin Sporenuntersuchungen von Pykniden, die sich vier Wochen nach der Infektion unter dem Rindenperiderm ausbildeten, oder Myzeluntersuchungen, die zur Unterscheidung von anderen Pilzarten, vor allem Schimmelpilzen, an Hand bestimmter Merkmale unterschieden werden konnten. Zur Sichtbarmachung größerer Myzelverbände für eine Myzeldiagnose hat sich das Mazerieren von nekrotischem Gewebe mit Sulfoformol und 3%iger Kalilauge bewährt.

Als Maßeinheit für die Feuchtigkeitswerte haben wir sowohl den Wassergehalt in Prozent des Trockengewichtes (Trocknen im Thermostaten bei 105° C bis zur Gewichtskonstanz) als auch das Wasserdefizit, bezogen auf

den Gesamtwassergehalt, angeführt. Die Angaben des Wassergehalts in Prozent des Trockengewichtes schien in einigen Fällen nicht immer ganz befriedigend, wogegen mit dem Maßstab des Wasserdefizits die biologischen Reaktionen vielfach einleuchtender einzuordnen waren. Als Ausgangswert hierfür konnte jedoch nicht die absolute Wassersättigung, sondern nur der jeweilige Frischzustand bestimmt werden. Bei einigen Ausrechnungen wurden deshalb die Ergebnisse in beiden Maßeinheiten angegeben.

c) Mikroskopische Technik und Färbemethodik

Die histologischen Veränderungen im Rindengewebe bei Wundverschluß oder Abschluß einer Nekrose wurden mikroskopisch verfolgt. Untersuchungsmaterial hierfür lieferten mit einem Rasiermesser angefertigte Handschnitte. Beim Schneiden von Holzteilen wurden die Arbeiten mit einem Mikrotom ausgeführt, nach vorherigem Einbetten der Zweigstücke in Paraffin oder Cremolan 60 oder 90 der Badischen Anilin- und Sodafabriken. Das zuletzt genannte Einbettungsmittel ist wasserlöslich, was sich bei frischen Holzteilen nachteilig auswirkte, da die saftfrischen Teile zur Auflösung des Mittels führten. Gute Erfolge erzielten wir bei frischen Zweigstücken auch ohne jegliche Vorbehandlung. Untersucht wurden die mikroskopischen Schnitte in 30%igem Alkohol. Für eine längere Aufbewahrung des Präparates wählten wir als Einschlußmittel Glycerin-Gelatine.

Zum Nachweis von Kork (Kutin und Suberin) und Lignin verwendeten wir die üblichen Reagenzien: Sudan und Phloroglucin-Salzsäure bzw. Anilinsulfat. Bei dem Ligninnachweis mit Phlorogucin-Salzsäure machten wir die Erfahrung, daß Präparate, die ohne Deckglas kürzere Zeit an der Luft gelegen hatten, eine bedeutend schnellere Reaktion zeigten als solche, die mit einem Deckglas abgeschlossen waren. Beschleunigt wurden die übrigen Reaktionen vielfach durch leichtes Erhitzen der Präparate über der Gasflamme.

Zur Beobachtung der Pilzhyphen im Gewebe bewährte sich die Färbung mit Anilinblau-Pikrinsäure und Baumwollblau. Eine selektive Färbung wurde jedoch damit nicht in allen Fällen erreicht, da neben den Hyphen auch lebende Zellen des Rindenparenchyms eine verschieden starke Färbung annahmen. Bei unseren Untersuchungen machte sich dieser Nachteil jedoch nur gering bemerkbar, da nekrotische Zellen sich nicht oder nur als wenig anfärbbar erwiesen und Pilzhyphen nur zwischen abgetöteten oder absterbenden Zellen zu finden waren.

2. Wasserbewegung in isolierten Pappelzweigstücken

Durch die besondere Art der Methodik (Zerschneiden der Pappelzweige in 10 cm lange Abschnitte) war es nicht zu vermeiden, durch Unterbrechung der Saftstrombahnen und Änderungen in der Wasserbewegung unnatürliche physiologische Bedingungen zu schaffen. Eigene Versuche und Ergebnisse von MÜNCH (1910) und KÜSTER (1925) an lebenden Pappelabschnitten haben aber gezeigt, daß auch solche kurze Abschnitte noch lange lebensfähig sind und zu starker Kallusbildung befähigt bleiben. Für die Beurteilung der Höhe der Wasserabgabe war es wesentlich zu wissen, welcher Anteil der Gesamtmenge von der Rinde und welcher vom Holzkörper abgegeben wird. Zu dieser Frage führte vor allem die Vorstellung, daß die Abgabe von Feuchtigkeit nur von der Rinde aus geschehen konnte. Die Schnittflächen der Pappelzweigstücke kamen für den Austritt von Feuchtigkeit nicht in Betracht, da beide Hirnflächen zu Anfang des Versuches mit Baumwachs abgeschlossen wurden. Wenn also der Holzkörper tatsächlich einen Wasser-

verlust erleiden sollte, so mußte die Abgabe des Wassers zwangsläufig durch die Rinde erfolgen. Die Wasserbewegungen, die sich in einem solchen Falle im Holz und in der Rinde einstellten, waren für die Infektionsversuche von großer Wichtigkeit, denn nach den früheren Erfahrungen geht einer *Cytospora*-Infektion eine Schwächung der Pflanze durch Wasserverlust voraus. Bei der Bedeutung von *Cytospora* als Rindenpilz müßte also erst die Rinde beeinträchtigt sein, ehe ein positiver Infektionserfolg herbeigeführt werden könnte. Die Wasserverhältnisse, die sich bei dem Vorgang der Wasserabgabe in der Rinde und im Holz wechselseitig einstellten, haben wir in einem Parallelversuch untersucht. Hierzu nahmen wir, im November 1954, 25 gleichartige 1 cm dicke Pappelzweigstücke, verschlossen beide Schnittflächen mit Baumwachs und ließen die so behandelten Abschnitte eine verschieden lange Zeit offen an der Luft im Laboratorium liegen (Luftfeuchtigkeit 70 %). Die erste Wassergehaltsbestimmung führten wir durch Wägung gleich zu Beginn des Versuches durch, indem von fünf Pappelabschnitten die Rinde bis zum Kambium mit einem Messer vom Holz losgetrennt und beide Teile gesondert gewogen wurden. Anschließend wurde das Darrgewicht bestimmt und so der Wassergehalt ermittelt. Auf die gleiche Weise wurde das Gewicht der Rinde und des Holzes der übrigen Pappelzweigstücke nach einer Lagerungszeit von 2, 3, 5 und 9 Tagen festgestellt. Die Trennung von Rinde und Holz erfolgte in allen Fällen kurz vor dem Wiegen, so daß gerade diejenigen Wasserverhältnisse erfaßt werden konnten, die sich nach den verschiedenen Lagerungszeiten in den Pappelabschnitten eingestellt hatten.

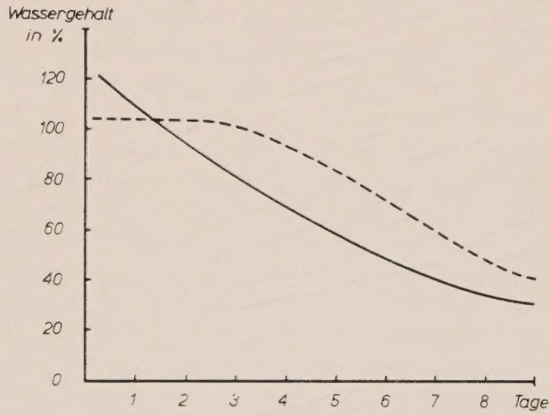

Abb. 1. Verlauf des Wassergehaltes von Rinde - - - - - - und Holz ——— in Abhängigkeit von der Lagerungszeit. Der Verlauf der Kurven ergab sich aus je fünf Mittelwerten von 5 × 5 gleichartigen Pappelabschnitten des gleichen Baumes. Der auf der Ordinate aufgetragene Wassergehalt ist auf das Darrgewicht bezogen. Beginn des Versuches: 5. 1. 1955

Der Verlauf der Kurven in Abb. 1 zeigt, daß der Holzkörper vom Beginn des Versuches bis zum Ende der Wägungen gleichmäßig an Gewicht abnahm. Im Gegensatz dazu verlief die Wasserabgabe der Rinde ungleichmäßig. Ein merklicher Wasserverlust ließ sich hier erst nach einer Lagerungszeit der Pappelzweigstücke von zwei bis drei Tagen erkennen; bis zu diesem Zeitpunkt konnte die Rinde also noch ihre Turgeszenz aufrechterhalten.

Zur Erklärung des Verlaufes beider Kurven kann angeführt werden, daß während der ersten Zeit der Wasserabgabe die lebenden Rindenzellen, um ihr Wasserdefizit wieder aufzufüllen, dem Holzkörper osmotisch Feuch-

tigkeit entzogen hatten. Eine bedeutendere Wasserabgabe der Rindenzellen trat erst dann ein, als der Holzkörper nur noch eine Feuchtigkeit von durchschnittlich 90 %, bezogen auf das Darrgewicht, besaß; das entsprach einem Wasserverlust des gesamten Pappelabschnittes von 20 % der gesamten, zunächst vorhanden gewesenen Wassermenge. (Variationsbreite 18 bis 24 %.)

Diese Beobachtung der Wasserbewegung im Holz und in der Rinde war für die weiteren Untersuchungen von großer Wichtigkeit, denn vermutlich wird sich eine positive Infektion erst dann einstellen, wenn die Wasserabgabe des Rindengewebes einsetzt. Diesen Grenzwert des kritischen Wasserverlustes zu ermitteln, soll die Aufgabe des folgenden Versuches sein.

3. Rindeninfektion in Abhängigkeit von der Wundheilung

a) Infektionsversuche

Um nun die Größe des Wasserdefizits experimentell zu ermitteln, bei welchem eine Infektion zum Haften kommen kann, ließen wir Pappelzweigstücke, an den Schnittflächen mit Baumwachs verschlossen, verschieden lange austrocknen und erhielten auf diese Weise eine abgestufte Reihe von Abschnitten verschiedenen Wassergehaltes. Diese so vorbehandelten Pappelabschnitte wurden mit *Cytospora*-Myzel beimpft und unter konstanten Bedingungen so aufbewahrt (Luftfeuchtigkeit 96 %, Temperatur 18,5 bis 20 ° C), daß sich der Wassergehalt dabei praktisch nicht weiter veränderte.

Nach sechs Tagen zeigten von 300 Impfungen nur solche einen positiven Infektionserfolg, deren Zweigstücke einen Verlust von mindestens 20 % des Gesamtwassergehaltes erlitten hatten. Ein Teilergebnis dieses Versuches ist in Tabelle 1 eingetragen. Aus dieser wird ersichtlich, daß die Infektionsschwelle zwischen einem Wasserverlust von 18 und 22% lag. Pappelabschnitte mit einem Wasserverlust über 22 %, bezogen auf den Gesamtwassergehalt, wiesen in jedem Falle eine Nekrose auf. Bezieht man den Wassergehalt auf das Darrgewicht, so liegt die jeweilige Infektionsschwelle in bedeutend weiteren Grenzen, zwischen 82 und 100 %. Die Ursache dieser Schwankungsbreite scheint auf die unterschiedliche Wasserabgabe verschieden dicker Pappelzweigstücke zurückzugehen. Trotz der Auswahl nur 1,0 bis 1,5 cm dicker Zweigstücke wiesen nämlich die Holzkörper der Abschnitte nach einer mehrtägigen Lagerung einen verschiedenen Feuchtigkeitsgehalt auf, wogegen die Rinde in allen Fällen gleichmäßig an Gewicht abgenommen hatte.

In dem vorhergehenden Kapitel über die Wasserbewegung in isolierten Pappelzweigstücken zeigte sich eine bedeutendere Wasserabgabe der Rinde erst bei einem solchen Gewicht, welches einer Abgabe von 20 % der im ganzen Zweigstück vorhandenen Wassermenge entspricht. Vergleichen wir hiermit die Infektionsschwelle (18 bis 22 %, bezogen auf den Gesamtwassergehalt), so finden wir eine recht genaue Übereinstimmung beider Werte. Man darf hieraus schließen, daß bei einem Wasserverlust von 20 %, bezogen auf den Gesamtwassergehalt, gleichzeitig eine Schädigung der Rindenzellen eintritt, die als Folgeerscheinung eine Infektionsbereitschaft nach sich zieht.

Tabelle 1

Teilergebnis eines Versuches zur Bestimmung der Infektionsschwelle.

Die Auswertung des gesamten Versuches umfaßte je zwei Infektionen an 81 gleichwertigen Pappelabschnitten, von denen 20 Infektionen zur Bestimmung des Grenzwertes in der Tabelle eingetragen sind. Durchführung und Beginn der Versuche am 5. Oktober und 17. Oktober 1954

Objekt Nr.	Wassergehalt in % bezogen auf Darrgewicht	Wasserverlust in % des Gesamtwassergehaltes	Infektionserfolg
1	95,4	15,0	↑
2	88,9	15,9	
3	**82,1**	19,2	
4	86,1	19,4	
5	93,2	19,9	
6	88,6	20,7	
7	92,6	21,1	
8	83,6	21,5	
9	90,5	21,7	negativ
10	82,2	22,0	Infektionsschwelle
11	86,3	18,3	positiv
12	86,0	19,0	
13	80,2	19,8	
14	82,0	20,1	
15	84,3	20,1	
16	**100,0**	20,5	
17	92,6	20,8	
18	96,2	21,0	
19	90,5	23,0	
20	87,8	25,3	↓

Für das Gelingen einer Infektion ist es nicht unbedeutend, zu welchem Zeitpunkt nach der Verwundung eine Infektion eintritt. Experimentelle Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Alter der Wunde und Wasserzustand des Pappelzweigstückes haben wir in folgendem Versuch angestellt. Als Versuchsmaterial wurden zum Teil dieselben Pappelabschnitte verwendet, von denen die Ergebnisse in Tabelle 1 gezeigt wurden. Eine Übersicht über 242 Spätinfektionen an verschieden alten Wunden von Pappelabschnitten mit unterschiedlichem Wassergehalt gibt Tabelle 2. Aus der Verteilung der positiven und negativen Erfolge der Myzelinfektionen geht deutlich hervor, daß das Auftreten einer Nekrose einmal abhängt von der Größe des Wasserverlustes, andererseits von dem Alter der Wunde. Beide Faktoren können sich jedoch gegenseitig kompensieren, da eine Wunde trotz größeren Wasserdefizits nicht infektionsanfällig ist, wenn sie ein bestimmtes Alter erreicht hat.

Eine Bestätigung dieser Ergebnisse geben Infektionsversuche, die wir mit Sporenimpfungen durchgeführt haben (Tab. 2). Ein positiver Infektionserfolg zeigt sich hier erst bei einem Wasserverlust von 25 %, bezogen auf den Gesamtwassergehalt. Ein Wasserverlust von 35 bis 40 % wirkt sich auf die Rindenzellen offensichtlich so stark schädigend aus, daß auch die zu einem späteren Zeitpunkt vorgenommenen Infektionen zwangsläufig zu Nekrosen

führten. In solchen Fällen war die Grenze der irreversiblen Schädigung vermutlich schon erreicht.

Tabelle 2

Infektionen an Pappelabschnitten in Abhängigkeit vom Alter der Wunden und vom Wasserverlust der Zweigstücke.

Die Zahlen der 242 Myzel- und Sporeninfektionen verteilen sich auf alle Tabellenspalten gleichmäßig. Durchführung der Versuche im Oktober 1954.

Infektionserfolg: negativ —, positiv +

	Wasserdefizit in % bezogen auf Gesamtwassergehalt	Alter der Wunden			
		frisch	3 Tage	5 Tage	8 Tage
Myzelinfektion	0 — 20	—	—	—	—
	20 — 25	+	—	—	—
	25 — 35	+	+	—	—
	35 — 40	+	+	+	+
Sporeninfektion	20 — 25	—	—	—	—
	25 — 35	+	—	—	—
	35 — 40	+	+	+	+

Die Infektionsschwelle, die wir in diesen Versuchen an besonders dafür präparierten Pappelabschnitten ermittelt haben, läßt sich wegen der unterschiedlichen physiologischen Bedingungen nicht ohne weiteres auf unzerteilte Pappelpflanzen im Freiland übertragen. Laufende Infektionsversuche an vier unzerteilten, nicht im Boden stehenden zweijährigen Pflanzen ergaben einen positiven Infektionserfolg erst bei einem Wasserverlust von etwa 30 %, bezogen auf den Gesamtwassergehalt. Die Infektionsschwelle für *Cytospora* ist damit bei im Freiland stehenden Pflanzen auf einen entsprechend höheren Wasserverlust einzusetzen.

b) Mikroskopische Untersuchungen des Wundgewebes

Die Ergebnisse der Infektionsversuche haben gezeigt, daß die Infektionsresistenz vom Wasserzustand, d. h. von der Größe des Wasserverlustes der Pappelzweigstücke und dem Alter der Wundstellen abhängt. Für die Erklärung dieser Zusammenhänge kann nun die Vorstellung herangezogen werden, daß eine Beziehung zwischen dem Eindringen des Pilzes und dem Vorgang der Wundheilung besteht. Sie ist vermutlich darin zu sehen, daß die Wunde nach einer bestimmten Zeit eine Schutzzone ausgebildet hat, die das Eindringen des Pilzes in das Rindengewebe verhindert. Die Bildung eines solchen Wundperiderms wird um so früher einsetzen, je geringer der Wasserverlust der Pappelzweigstücke ist.

Auf Grund der Bedeutung, die eine schnelle Wundheilung auf den Verlauf einer Infektion hat, haben wir den Wundheilungsvorgang von Beginn der Infektion an bis zum völligen Wundabschluß bzw. bis zur Nekrose an Hand von Schnitten mikroskopisch verfolgt. Es zeigten sich hier einen Tag nach der Verwundung folgende Bilder: Kollabieren der angeschnittenen

Parenchymzellen und Bräunung der Inhaltsstoffe, Chlorophyllschwund, Bildung typischer Wundkerne und Wanderung des Zellkerns in Richtung zur Schnittfläche. Nach eineinhalb bis zwei Tagen wurden metaplastische Veränderungen sichtbar, die MEYER (RUMPF, 1904) unter dem Begriff der Metakutisierung zusammengefaßt hat; darunter sollen Veränderungen verstanden werden, die in einer Verholzung der Membranen und einer gleichzeitigen Auflagerung von Korklamellen bestehen. Sechs Tage nach der Verwundung erhielten wir ein solches Bild, wie es ein Beispiel in Abb. 2 zeigt. Eine Phloroglucin - Salzsäurereaktion ließ zu diesem Zeitpunkt eine tiefrote, vier bis acht Zellen starke Gewebeschicht erkennen, die sich schräg zur Schnittwunde in 1/2 mm Entfernung vom Wundrand ausgebildet hatte. Die Verholzungszone wurde zum Geweberinneren hin von einer Korkschicht begrenzt, deren Bildung durch Teilung einer Parenchymzellreihe schon am dritten Tage nach der Verwundung einsetzte. Am sechsten Tage fand sich eine ein bis drei Zellen starke durch Sudan nachweisbare Korkschicht ausgebildet, die in ihrer Dicke von den weniger teilungsfähigen Kollenchymzellen bis zu den an den Holzkörper reichenden Parenchymzellen anstieg. Weiterhin läßt Abb. 2 erkennen, daß Pilzhyphen von *Cytospora* nur in die äußeren Zellen des Wundrandes eingedrungen waren. Ein weiteres Vordringen des Myzels, wie auch eine Diffusion der den Hyphen vorauseilenden Toxine wurde durch Bildung eines solchen Barrierengewebes offenbar verhindert.

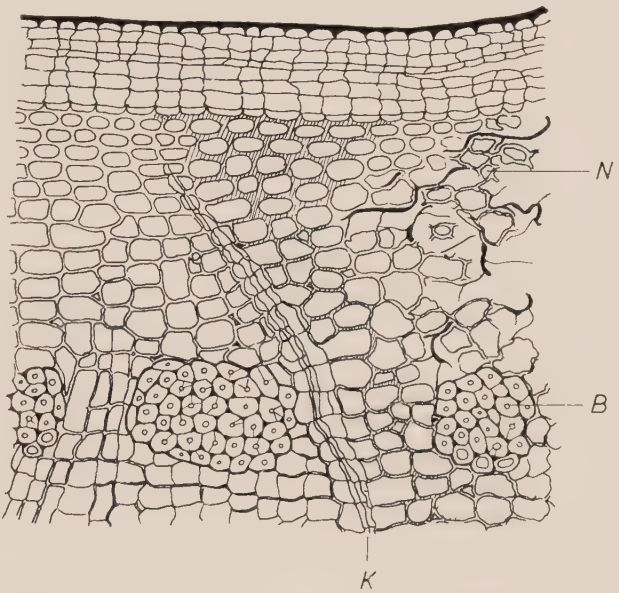

Abb. 2. Querschnitt durch den Wundrand einer Rindenverletzung, sechs Tage nach der Infektion; halbschematisch. N = nekrotisches Gewebe mit eindringendem Myzel, B = Bastfaserbündel, K = Korkgewebe. Die Verholzung der Zellmembranen ist durch Strichelung angedeutet

Parallel hierzu haben wir solche Wundgewebe untersucht, die nicht mit *Cytospora*-Myzel beimpft waren. Im mikroskopischen Bilde zeigten sich an solchen Schnitten außer dem Fehlen der Hyphen keinerlei Unterschiede in der Art und dem Ort der Zellneubildungen. Eine vom Pilz ausgehende Reizwirkung, die einen Einfluß auf den Vorgang der Wundheilung haben konnte, haben wir nicht festgestellt.

Bei den Infektionsversuchen trat eine Verzögerung der Wundheilung jedesmal dann auf, wenn sich die Wasserabgabe des Pappelabschnittes erhöhte. Versuchsergebnisse über die Reaktionsgeschwindigkeit der Wundheilung in Abhängigkeit vom Wassergehalt der Pappelabschnitte sind in Tabelle 3 zusammengestellt. Diese Ergebnisse sind deswegen von Interesse, weil sie die mikroskopische Auswertung der Infektionsversuche wiedergeben (S. 251).

Tabelle 3

Wundheilung in Abhängigkeit vom Wasserverlust, acht Tage nach der Infektion.

Durchführung der Versuche vom 5. Oktober bis 17. Oktober 1954. Temperatur 20° C

Wasserverlust in % bezogen auf Gesamtwassergehalt	Infektionserfolg	Korkbildung	Verholzung
0	negativ	3-zellig	stark
5	negativ	3-zellig	stark
10	negativ	2-zellig	stark
15	negativ	1-zellig	weniger stark
20	nur teilweise negativ	keine	schwach
25	positiv	keine	sehr schwach
30	positiv	keine	keine

Aus Tabelle 3 kann man entnehmen, daß mit der Größe des Wasserdefizits und der Schwächung der physiologischen Widerstandskraft und Regenerationsfähigkeit, die in der Verholzung und der Korkbildung zum Ausdruck kommen, auch die Infektionsanfälligkeit ansteigt. Ist die Wunde einmal durch ein neugebildetes Periderm abgeschlossen, so ist damit dem Vordringen des Pilzes eine Schranke gesetzt. Dieses wird besonders durch die Beobachtung bekräftigt, daß nach Ausbildung einer kohärenten Korkschicht selbst bei einem Wasserverlust von 30 %, bezogen auf den Gesamtwassergehalt, keine Infektion mehr zum Haften kommen kann. Hiermit ist die Wichtigkeit der Korkbildung als ein Resistenzfaktor am deutlichsten gezeigt. Weniger klar sind jedoch die Vorstellungen, die wir über den Verholzungsprozeß gewonnen haben. Da *Cytospora* nur extrazellulär durch Interzellularen und durch Spalten fermentativ gelöster Mittellamellen vordringt, scheint die Lignineinlagerung unbedeutend für das Eindringen des Pilzes zu sein. Nach mikroskopischen Bildern ist dieses jedoch nicht der Fall, da verholzte Membranen ein ebenso großes Hindernis für den Pilz darstellen wie die Korkzellen.

4. Myzelwachstum in Abhängkeit vom Wassergehalt

Neben der Bedeutung des Wasserfaktors für die Wirtspflanze sind die Wasserverhältnisse auch für den Pilz selbst nicht weniger bedeutsam, sowohl während der Infektion — für die Keimung der Sporen — als auch während

der Wachstumsphasen im Wundgewebe der Wirtspflanze. Beobachtungen darüber liegen schon von den verschiedensten Pflanzen und ihren entsprechenden Parasiten vor (GÄUMANN, 1953). MÜNCH (1910) hat einige Messungen über das Vordringen der Hyphen von *Cytospora nivea* im Rindengewebe verschieden wassergesättigter Pappelzweige angestellt, deren Ergebnis eine solche Parallele zwischen Myzelwachstum und Wassergehalt der Wirtspflanze feststellen lassen, wie auch die von uns ermittelte Kurve in Abb. 3 zeigt. Das Optimum für das Wachstum des Pilzes liegt hier bei einem Wassergehalt von 50 %, bezogen auf das Darrgewicht. Unterhalb dieses Wertes verringert sich die Ausdehnung der Nekrose, um schließlich bei einem Wassergehalt von 15 %, bezogen auf das Darrgewicht, ganz zu verlöschen. Trockene Äste sind demnach für das Wachstum von *Cytospora* ungeeignet; ihr Wachstumsbereich liegt vielmehr zwischen einem Wassergehalt von 90 und 15 %, bezogen auf das Darrgewicht.

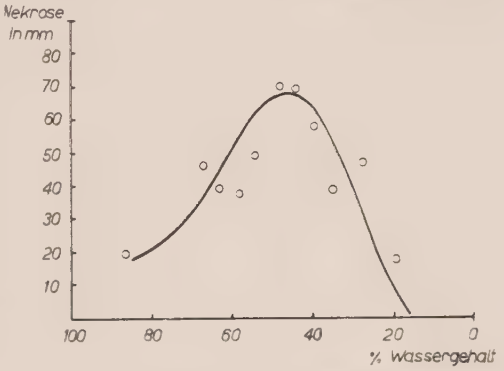

Abb. 3. Myzelwachstum in Abhängigkeit vom Wassergehalt. Die eingezeichneten Kreise geben das tägliche Myzelwachstum drei gleichartiger Pappelabschnitte wieder, ermittelt an der Größe der Nekrose. Der auf der Abszisse aufgetragene Wassergehalt ist auf das Darrgewicht bezogen. Durchführung des Versuches vom 1. 12. bis 8. 12. 1954. Temperatur: 22° C

5. Ausbreitungsresistenz durch Barrikadengewebe

Aus Beobachtungen im Freiland ist bekannt, daß eine positiv verlaufende *Cytospora*-Infektion nur in den wenigsten Fällen auf die ganze Pappelpflanze übergreift; meist bleibt der Befall auf Aststummel und Seitenzweige beschränkt. An den Grenzflächen solcher nekrotischen Gewebe mit gesundem Rindengewebe läßt sich fast immer ein Vernarbungsgewebe feststellen, bestehend aus mehreren Zellagen neugebildeter Korkzellen. In Anlehnung an diese Beobachtungen wurden im Laboratorium Versuche angestellt, um eine ähnliche Bildung experimentell auch an kurzen, nekrotischen Pappelzweigen hervorzurufen. Nach den Erkenntnissen, die wir aus den Infektionsversuchen in Abhängigkeit vom Wassergehalt gewonnen hatten, richteten wir die Methodik im wesentlichen auf die Erhöhung der Feuchtigkeit nicht wassergesättigter Pappelzweige.

Zur Durchführung der Versuche stellten wir Pappelstücke mit nekrotischen Infektionsstellen in Bechergläser mit destilliertem Wasser, um auf diese Weise eine Sättigung der Zweigabschnitte herbeizuführen. Es zeigte sich jedoch bald, daß diese Versuchsanordnung sowohl durch erhöhten Befall von Schimmelpilzen als auch durch Aufquellung des Rindengewebes mit hyperhydrischen Bildungen zu keinem Erfolge führen konnte. Für die endgültige Methodik benutzten wir daher U-förmig gebogene Glasröhren mit einem

Durchmesser von 1 cm, auf deren einem Ende ein Pappelabschnitt mit Hilfe eines Gummischlauchstückes luftdicht aufgesetzt wurde (Abb. 4). Der andere Schenkel der Glasröhre überragte den Ansatzpunkt des 10 cm langen Pappelstückes um mehrere Zentimeter, so daß mit einer verschieden hoch einstellbaren Flüssigkeitssäule des einen Schenkels ein Druck auf das basale Ende des Pappelzweiges in dem anderen Schenkel ausgeübt werden konnte. Auf diese Weise wurden physiologische Bedingungen, ähnlich dem Wurzeldruck, hergestellt. Statt destillierten Wassers benutzten wir als Flüssigkeit Rohrzuckerlösungen verschieden hoher osmotischer Werte. Um einen Anhaltspunkt für die Saugkraft der Rindenzellen zu bekommen, führten wir vorher eine kryoskopische Bestimmung des Zellsaftes durch. Zur Zeit dieser Untersuchungen, im Dezember 1954, fanden wir einen osmotischen Wert der Rindenzellen von 27,7 atm. Bis zur Höhe dieses Wertes stellten wir Zuckerlösungen verschiedener Molarität ein.

Abb. 4. (Erklärung siehe Text)

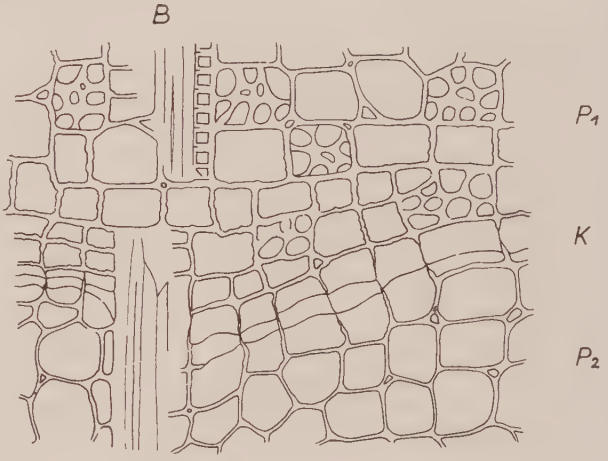

Abb. 5. Radialschnitt durch die Vernarbungszone eines Nekroserandes; halbschematisch. B = Bastfaserbündel, P_1 = verholzte Parenchymzellen mit Zelluloseauflagerung und netzförmigen Wandverdickungen, P_2 = unverändertes Rindenparenchym, K = Korkzellen

In einem Vorversuche wurde beobachtet, daß eine Wundheilung fast ausschließlich bei einer 0,4 molaren Rohrzuckerlösung einsetzte; das entsprach einem osmotischen Wert von 11,11 atm.

Nach der oben beschriebenen Versuchsanordnung wurden 24 Pappelabschnitte, die alle schon einen positiv sichtbaren Infektionserfolg aufwiesen, vier Wochen lang bei einer Temperatur von 21 °C kultiviert. Nach dieser Zeit zeigten sich im mikroskopischen Schnitt an der Grenzfläche von gesundem und nekrotischem Gewebe verschieden weit fortgeschrittene Stadien der Wundheilung. Bei drei Pappelabschnitten mit Nekrosen, die vorher den geringsten Wasserverlust von 18 %, bezogen auf den Gesamtwassergehalt, erlitten hatten, war eine ein bis zwei Zellen starke Korkschicht ausgebildet mit einer zur Nekrose sich anschließenden Gewebezone, deren Zellen verholzte Membranen aufwiesen. Den Querschnitt durch das Barrikadengewebe eines solchen, 1½ cm von dem Infektionsort entfernt liegenden Nekroserandes zeigt Abb. 5. Pappelabschnitte mit einem größeren Wasserverlust (bis 25 %)

zeigten nach einer gleichen Behandlung nur eine Verholzungsreaktion am Nekroserand und solche, mit einem Wasserverlust von mehr als 35 % keinerlei Zellveränderungen mehr. Eine Wiederaufnahme von Feuchtigkeit durch solche Pappelabschnitte hatte nur eine verlangsamte Myzelausbreitung zur Folge, eine Erscheinung, auf die schon MÜNCH (1909) hingewiesen hat.

Wie die Ergebnisse des Versuches zeigen, hat eine Erhöhung des Wassergehaltes einen wesentlichen Einfluß auf den Verlauf einer Wundheilung und auf die Abriegelung einer Nekrose. Besonders bei dem letzten Vorgang liegt die Vorstellung nicht ganz fern, daß nach einer Infektion ein Wettlauf zwischen dem vordringenden Myzel und der Bildung eines Barrikadengewebes einsetzt, der bei günstigen Wasserverhältnissen zugunsten der Pappel beendet wird. Bleibt aber bei einer zum Haften gekommenen Infektion ein bestimmtes Wasserdefizit bestehen, so dehnt sich die Nekrose schließlich auf das ganze Rindengewebe aus. Bei dem Problem der *Cytospora*-Krankheit scheint damit eine solche Infektion und Ausbreitungsresistenz vorzuliegen, die durch Gewebebarrieren bedingt wird.

6. Blattnarbeninfektion

Es hat sich gezeigt, daß *Cytospora* ein Wundparasit ist, da für sein Eindringen in das Wirtsgewebe eine Verletzung notwendig ist. Nach unseren Beobachtungen dringt der Pilz aber unter bestimmten Bedingungen auch durch frisch entstandene Blattnarben ein, und es fragt sich hierbei, inwieweit der Begriff „Wundparasit" trotzdem bestehen bleiben kann.

Nach Angaben aus der Literatur ist die Blattnarbe schon für verschiedene pflanzenpathogene Pilze als Eintrittsöffnung erkannt worden (GÄUMANN, 1953; KÜSTER, 1925). Der Infektionsweg ist jedoch nur ungenau angegeben insofern, als man für den Ort der Infektion die Blattnarbe als Ganzes angesprochen hat (SCHMIDLE, 1953 b). Wir haben daher Untersuchungen darüber angestellt, ob der Pilz einen bestimmten Infektionsweg bevorzugt und unter welchen Bedingungen ein solcher Infektionsvorgang ermöglicht wird.

a) Anatomie und Entwicklung der Blattnarbe

Aus den Beobachtungen früherer Untersucher ist bekannt (MÜHLDORF, 1925; PFEIFFER, 1928), daß dem Blattfall die Bildung eines Abschlußgewebes vorausgeht. Nach eigenen Untersuchungen wurde bei der Pappel ein Abschlußgewebe schon sechs Wochen vor dem Blattschub ausgebildet (die Daten wurden nach dem Blattfall von den in gleicher Höhe inserierten Blättern ermittelt). Zu diesem Zeitpunkt war also schon eine solche Korkschicht im Blattpolster ausgebildet, wie sie auch zur Zeit des Blattfalles vorgefunden wurde. Ein Durchdringen dieser Korkzone war für den Pilz so schon sechs Wochen vor dem Blattschub hier nicht mehr möglich.

Die einzigen Elemente der Blattnarbe, die beim Blattabwurf keine Trennungsgewebe ausbilden, sind die Siebröhren und Gefäße; sie werden vielmehr durch mechanische Einwirkung auseinandergerissen. Eine Wund-

stelle in dem Sinne einer unmittelbaren Körperöffnung wird dadurch bei einem normalen Blattfall jedoch nicht oder nur unvollständig geschaffen, da die Gefäße durch Thyllen schon vorher abgeschlossen werden. Wird dieser Vorgang jedoch verzögert oder gestört, so stellen die Gefäße einen unmittelbaren Infektionsweg für den eindringenden Parasiten dar. Die Bedeutung dieser Tatsache geht vor allem aus unseren Infektionsversuchen hervor.

b) Blattnarbeninfektion in Abhängigkeit vom Wasserverlust

Als Material zu den folgenden Versuchen wurden 25 bis 30 cm lange Zweigspitzen von *Populus deltoides* Harsefeld vom Kamp des Forstamtes Kattenbühl (Hann. Münden) ausgewählt und in 4-Ltr.-Einmachgläser bei einer Temperatur von 18 bis 19 °C und einer Luftfeuchtigkeit von 98 bis 100 % aufbewahrt. Zur Durchführung der Versuche war es weiterhin notwendig, die Blattnarben vorzeitig freizulegen, was durch leichtes Abknicken und Lösen der noch grünen Blätter von den Zweigen erfolgte. Als Infektionsmaterial dienten mit Myzel von *Cytospora chrysosperma* überwachsene Agarscheibchen, die mit der Myzelseite den ausgewählten Blattnarben aufgelegt wurden.

Tabelle 4

Infektionsversuche an frischen Blattnarben in Abhängigkeit vom Wasserverlust der Pappelzweige.

Zeitdauer des Versuches: sechs Tage

Zweig Nr.	Wassergehalt in %, bezogen auf Darrgewicht	Wasserverlust in %, bezogen auf Frischgewicht	Infektion	
			positiv	negativ
1	116,7	0	1	7
2	121,3	0	0	8
3	131,0	0	1	7
4	126,5	6,5	1	7
5	113,2	10,5	1	7
6	137,4	12,0	0	8
7	107,7	12,5	2	7
8	87,5	17,6	4	4
9	111,8	17,8	4	4
10	77,7	36,5	5	3
11	60,2	39,0	7	1
12	65,0	39,5	6	2
13	50,6	45,0	7	1
14	41,2	62,0	5	3

Am 7. und 12. Oktober 1954 wurden 14 Pappelzweige innerhalb 24 Stunden auf verschiedene Wassergehaltsstufen gebracht und anschließend acht vorher freigelegte Blattnarben jedes Zweiges beimpft. Die Ergebnisse dieses Infektionsversuches, die in Tabelle 4 zusammengestellt sind, zeigen mit Vergrößerung des Wasserverlustes auch eine Erhöhung der Befallshäufigkeit. Ein positiver Infektionserfolg gab sich durch braune nekrotische Rindenveränderung um die Blattnarbe herum zu erkennen.

Sechs Tage nach der Infektion ließen mikroskopische Untersuchungen beimpfter Blattnarben erkennen, daß der Pilz seinen Weg nur dann in die Blattnarben genommen hatte und im anliegenden Rindengewebe nachgewiesen werden konnte, wenn die Gefäße nicht oder lückenhaft verthyllt

waren (Abb. 6). Es ergab sich damit eine Beziehung zwischen einem negativen Infektionserfolg und der Ausbildung von Thyllen. Die Thyllenbildung selbst zeigte wiederum eine Abhängigkeit vom Wassergehalt der Pappelzweigstücke. Wie aus Tabelle 4 hervorgeht, ließen wassergesättigte Zweige ausschließlich verthyllte Gefäße erkennen. Hatten die Zweige jedoch unter großem Wassermangel gelitten, so konnte im mikroskopischen Bilde eine Abnahme der Thyllenbildung (Abb. 7) beobachtet werden, die bei 50 % Wasserverlust, bezogen auf das Darrgewicht, sogar völlig ausblieb. Unter den

Abb. 6. Eine Hyphe von *Cytospora* dringt durch das Lumen eines unverthyllten Gefäßes. Vergr. 800×

Abb. 7. Beginnende Verthyllung eines Gefäßes. Vergr. 750×

Bedingungen eines solchen größeren Wasserverlustes wurde in fast allen Fällen ein positiver Infektionserfolg festgestellt. Anders verliefen jedoch die Infektionsversuche, die wir drei Tage nach einem normalen Blattfall ausgeführt haben. Trotz eines ebenso hohen Wasserverlustes von 50 % wurden keine nekrotischen Rindenveränderungen, die stets als Zeichen eines positiven Infektionserfolges gelten, beobachtet (Ergebnis von 40 Impfungen). Das Vorfinden von verthyllten Gefäßen bestätigte damit wiederum die Vorstellung, daß auch die Thyllenbildung als mechanische Infektionsbarriere aufzufassen ist.

Die Bedeutung, welche den Siebröhren als Eingangspforte für den Pilz, ähnlich den Gefäßen, zukommen könnte, ist nicht näher untersucht worden, jedenfalls wurde kein Myzel in Siebröhren beobachtet. Man kann wohl annehmen, daß Kallosebildung und Siebröhrenkollaps als ein physiologisches Gegenstück zur Verthyllung der Gefäße gelten können.

c) Blattnarbeninfektion in Abhängigkeit von Kälteeinwirkung[1])

Nach Beobachtungen im Freiland werden Infektionen vermutlich auch durch Frühfröste begünstigt. Der Verlauf der Infektion ist hierbei wiederum an die Vorstellung geknüpft, daß nur ein unvollkommen abgeschlossenes Narbengewebe eine Infektion ermöglichen kann.

Zur experimentellen Nachprüfung wurden 15 Zweigspitzen von *Populus deltoides* am 16. Oktober 1954 abgeschnitten und fünf Tage ohne Verminderung des Wassergehaltes bis auf — 6° C unterkühlt. Anschließend wurden fünf Zweige bei — 6° C, die übrigen bei einer Temperatur von +13° C aufbewahrt und alle mit *Cytospora*-Myzel beimpft. Mit der Unterkühlung sollte ein gleicher Effekt wie bei Frosteinwirkung erzielt werden. Von den Blättern lösten sich 25 % schon nach einer drei- bis viertägigen Einwirkung von — 6° C, die übrigen erst nach Aufenthalt bei einer Temperatur von +13° C, kurz nach der Entnahme aus der Kühltruhe.

Tabelle 5

Blattnarbeninfektionen nach Unterkühlung auf —6° C

Temperatur	Wasserverhältnisse der Pappelzweige	Infektionserfolg nach vier Tagen	Nekrose-Durchmesser
— 6° C	wassergesättigt	negativ	—
+ 13° C	wassergesättigt	10 % der Narben positiv	2—3 mm
+ 13° C	30 % Wasserverlust bez. a. Frischgewicht	40 % der Narben positiv	5—6 mm

Die in Tabelle 5 eingetragenen Versuchsergebnisse lassen erkennen, daß bei voller Wassersättigung und andauernder Temperatur von — 6° C keine Nekrose eintrat. Vermutlich war bei einer solchen niedrigen Temperatur der Pilz nicht mehr wachstumsfähig. Ein anderes Ergebnis zeigen jedoch die Zweige, die anschließend nach der Unterkühlung bei einer Temperatur von +13° C aufbewahrt wurden. Hier unterschieden sich die wassergesättigten Zweige von den wasserärmeren einmal in ihrer niedrigeren Befallshäufigkeit, andererseits in der geringeren Ausbreitung der Nekrose. Prinzipiell zeigten aber beide Versuchsreihen bei einer Temperatur von + 13° C eine Infektionsbereitschaft und Nekroseerscheinungen, wenn auch in verschieden starkem Maße. Stellen wir die Werte der Tabelle 5 denen aus Tabelle 4 gegenüber, so erkennt man in beiden Fällen eine Parallele zwischen Befallshäufigkeit und Wassersättigung bzw. Wasserverlust. Der Unterschied beider Versuche besteht im wesentlichen nur in der Art und Weise, wie die Trennung des Blattes vom Blattpolster vor sich gegangen ist. Der Infektionserfolg war in beiden Fällen jedoch der gleiche. Es liegt damit die Vermutung nahe, daß ein positiver Infektionserfolg allgemein durch einen vorzeitigen Abwurf der Blätter bedingt wird; dabei ist es gleich, ob dieses durch mechanisches

[1]) Zu den Kälteversuchen stellte das Forstbotanische Institut in Hann. Münden freundlicherweise eine Kühltruhe zur Verfügung.

Abknicken der Blätter oder durch Unterkühlung verursacht wird. Wesentlich in beiden Fällen scheint das Vorhandensein unverthyllter Gefäße zu sein, um dadurch primär dem Pilz eine Eintrittsmöglichkeit zu geben. Ob jedoch dem Pilz die Einwanderung in das Rindengewebe durch die noch offenen Gefäße gelingt, darüber entscheidet das durch den Wassergehalt bestimmte Reaktionsvermögen der Pflanze. Bei den negativ verlaufenden Infektionsversuchen an wassergesättigten Pappelzweigen hat die Pflanze durch eine nachträgliche Verthyllung der Gefäße dem vordringenden Pilz noch rechtzeitig einen Riegel vorschieben können. Dieses wurde durch Untersuchung mikroskopischer Schnitte bestätigt.

Wichtig als Resultat der Infektionsversuche an Blattnarben erscheint damit die Tatsache, daß nach normaler Entlaubung eine solche Verthyllung der Gefäße vorhanden ist, daß keine *Cytospora*-Infektion zustande kommen kann. Damit finden wir eine Antwort auf die zu Anfang gestellte Frage, ob die Blattnarbe im normalen Ablauf des Blattfalls als Eintrittsöffnung für einen Wundparasiten anzusehen ist. Diese Frage müssen wir nach den letzten Versuchen verneinen. Wird aber der Blattfall durch Frosteinwirkung oder mechanisches Abknicken der Blätter vorzeitig ausgelöst, so kann der Pilz durch die noch unverthyllten Gefäße einwandern und so als positive Infektion zum Haften kommen.

7. Besprechung der Ergebnisse

Die Bedeutung, welche den Wasserverhältnissen der Pappelzweige für das Gelingen einer Infektion zukommt, ist aus den Versuchen deutlich hervorgegangen. Schon frühere Untersucher (Münch, 1909; Long, 1918) erkannten eine Beziehung zwischen Wasserverlust und Trocknis von Pappelpflanzen und dem Auftreten von *Cytospora*. Ähnliches beobachtete Schreiner (1931) bei unsachgemäßer Verpflanzung junger Pappeln. Alle Beobachtungen über ein Auftreten von *Cytospora* lassen sich letzten Endes auf die von Müller-Stoll und Hartmann (1950) und Schmidle (1953 a) angeführte physiologische Schwächung der Wirtspflanze zurückführen. Die Bezeichnung des Pilzes als Schwächeparasit ist darum in der Literatur sehr häufig zu finden. Schmidle (1953 a) bezeichnet den Pilz jedoch als Perthophyten und hebt ihn damit aus dem allgemeinen Begriff des Parasitismus heraus. Da die Definition des Perthophyten (Münch, 1929) als eines Pilzes, der zu seiner Entfaltung bestimmte Dispositionszustände der Pflanze erfordert, auch nach unseren Versuchsergebnissen für *Cytospora* zutrifft, sollte der Begriff für diesen Pilz beibehalten werden.

Die Infektionsschwelle für das Gelingen einer Infektion fanden wir in unseren Laboratoriumsversuchen bei einem Wasserverlust der Pappelzweigstücke von 18 bis 22 %, bezogen auf den Gesamtwassergehalt. Ein geringerer Wasserverlust zeigte in jedem Falle einen negativen Infektionserfolg, auch bei einer längeren Lagerung wassergesättigter Zweige von vier bis sechs Wochen. Eine Unterbrechung der Saftstrombahn scheint bei unseren Versuchen damit nicht unbedingt als Voraussetzung für eine Infektionsbereit-

schaft Geltung zu haben, wie es SCHMIDLE (1953 a) für im Freiland stehende Pappelpflanzen angibt. Im wesentlichen wird wohl die Angabe von SCHMIDLE auf einen Wasserverlust zu beziehen sein, der ja im Freiland zwangsläufig durch Unterbrechung des Wassernachschubs eingeleitet wird.

Da nun auch für die im Freiland stehenden Pappelpflanzen gleiche Voraussetzungen für das Gelingen einer Infektion angegeben werden (MÜNCH, 1910; SCHREINER, 1931; MÜLLER-STOLL und HARTMANN, 1950), ergibt sich die Frage, ob die im Laboratorium ermittelte Infektionsschwelle auf solche, im Freiland vorliegenden Verhältnisse übertragen werden dürfen. Die Verschiebung der Infektionsschwelle, die wir schon an unzerteilten Pappeln beobachtet haben (30 %, bezogen auf Gesamtwassergehalt) läßt eine solche Übertragung auf Freilandpappeln jedoch nicht zu. Es ist weiterhin auch noch nichts darüber bekannt, ob die Infektionsschwelle für einen *Cytospora*-Befall bei allen Pappelsorten gleich hoch liegt. Einen Hinweis besonders für diese Möglichkeit gibt die unterschiedliche Wasserverlustempfindlichkeit verschiedener Pappelsorten gegenüber einem *Dothichiza*-Befall (SCHÖNHAR, 1953; SCHMIDLE, 1953 b). Eindeutige Ergebnisse, vor allem über die Grenzwerte der zur Infektion notwendigen Wasserverluste, liegen jedoch noch nicht vor.

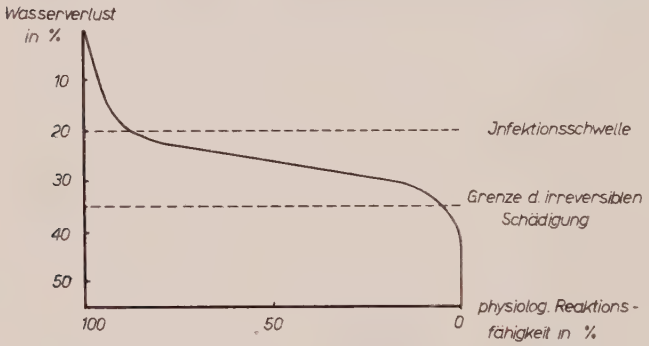

Abb. 8. Verlauf der physiologischen Reaktionsfähigkeit in Abhängigkeit vom Wasserverlust. Der auf der Ordinate aufgetragene Wasserverlust ist in Prozent des Gesamtwassergehaltes angegeben

Physiologisch wirkt sich ein Wasserverlust auf die Pappelpflanze durch Herabsetzung ihrer Reaktionsfähigkeit, die bis zur irreversiblen Schädigung führen kann, aus. Wie aus einer schematischen Übersicht (Abb. 8) hervorgeht, ist diese Grenze der Schädigung bei einem Wasserverlust von 35 %, bezogen auf den Gesamtwassergehalt, schon erreicht. Damit geht also auch die Fähigkeit der Zellteilung verloren, die für die Abriegelung einer Infektion als entscheidend festgestellt wurde. Zwischen dieser irreversiblen Schädigung und der schon bei geringerem Wasserverlust einsetzenden Infektionsschwelle liegen jedoch noch solche physiologischen Zustände vor, die der Pappelrinde Zellteilungen noch ermöglichen. Wundheilungen ließen sich darum nach einem Wasserverlust der Pappelzweige dann noch beobachten, wenn die Holz- und Rindengewebe wieder auf optimale Wasserverhältnisse zurückgeführt wurden.

Die physiologischen Reaktionen, die in der vorliegenden Arbeit nur in Abhängigkeit vom Wassergehalt bzw. Wasserverlust untersucht worden sind, können noch von einer weiteren Anzahl von Faktoren bestimmt werden, die

teils endogen verankert sind, teils als klimatische Faktoren auftreten. So haben z. B. Beobachtungen während des ganzen Jahres gezeigt, daß die Schnelligkeit der Wundheilung von der jeweiligen Jahreszeit abhängt. Es ist nach unseren Laboratoriumsversuchen durchaus denkbar, daß eine Infektionshäufigkeit an bestimmte Jahreszeiten gebunden ist. Untersuchungen über die Abhängigkeit einer *Cytospora*-Infektion von der Jahreszeit haben jedoch bisher keine deutlichen Ergebnisse gezeigt (Schmidle, 1953 a). Enger an den jahreszeitlichen Gang scheint dagegen das Auftreten von Herbst- und Frühjahrsinfektionen durch *Dothichiza* geknüpft zu sein. Die Untersuchungen, die von Schmidle (1953 b) und von v. Vloten (1938) darüber angestellt wurden, lassen vermuten, daß die Befallshäufigkeit in irgendeiner Weise mit den verschiedenen physiologischen Reaktionen der Pappel in Verbindung stehen. Möglicherweise spielt hier der von der Jahreszeit abhängige Temperaturfaktor eine größere Rolle, als man bisher angenommen hat. Eine damit verknüpfte, früher bzw. später einsetzende Wundheilung könnte die Lösung des *Dothichiza*-Problems vielleicht näherrücken lassen. Andererseits kann aber auch durch toxische Einflüsse von seiten des Pilzes eine Zellteilung und damit Barrierenbildung möglicherweise unterbunden werden. Zur Klärung des *Dothichiza*-Problems sind jedenfalls noch weitere Untersuchungen notwendig, die nach den bisherigen Vorstellungen über die Ursache der Anfälligkeit, von der Wirtspflanze aus, und hier von physiologischer Seite, angegangen werden müssen.

Zusammenfassung

Bisherige Untersuchungen wiesen darauf hin, daß ein *Cytospora*-Befall an Zweigen der Pappel nur dann auftritt, wenn diese in ihrer Wasserversorgung gestört sind. In der vorliegenden Arbeit wird versucht, diese Bedingungen genauer zu erfassen.

1. In Laboratoriumsversuchen haben wir an 10 cm langen und 1 cm dicken Pappelzweigstücken die kritische Grenze desjenigen Wasserverlustes ermittelt, bei welchem eine *Cytospora*-Infektion zum Haften kommt. Die Infektionsschwelle wurde bei einem Wasserverlust von 18 bis 22 %, bezogen auf den Gesamtwassergehalt, gefunden.

2. Mikroskopische Untersuchungen ließen eine Beziehung zwischen dem Wassergehalt der Pappelzweigstücke und der Wundperidermbildung erkennen. Wurde durch erhöhten Wasserverlust der Ablauf der Wundheilung gehemmt, so stieg die Infektionsanfälligkeit an.

Die Ausbildung eines Wundperiderms gilt damit als Infektionsbarriere gegen den eindringenden Pilz. Sie erfolgt ausschließlich auf den Wundreiz hin und ist damit als unspezifische Reaktion zu betrachten.

3. Nach einem positiven Infektionserfolg konnte eine weitere Ausdehnung einer Wundnekrose zum Stillstand gebracht werden, wenn das Wasserdefizit der Pappelzweigstücke durch Zufuhr einer verdünnten Zuckerlösung wieder aufgefüllt wurde. Auch in solchen Fällen wurde am Nekroserand ein Vernarbungsperiderm nachgewiesen.

4. Ähnlich den Rindeninfektionen zeigten künstlich mit *Cytospora* beimpfte Blattnarben dann einen positiven Infektionserfolg, wenn die Gefäße der beim Blattfall zerrissenen Leitbündel noch nicht verthyllt waren. Die unverthyllten Gefäße dienten hierbei dem Pilz als Eintrittspforte. Die bei einem normalen Blattfall vorliegenden verthyllten Gefäße stellen damit, analog der Wundperidermbildung, eine Infektionsbarriere dar. Diese kann jedoch bei vorzeitigem Abwurf der Blätter fehlen.

5. Die Ausbildung schützender Gewebebarrieren wird möglicherweise auch für die Infektion anderer Rindenpilze eine Bedeutung haben.

Literaturverzeichnis

GÄUMANN, E., 1953: Pflanzliche Infektionslehre. Verlag Birkhäuser, Basel. 2. Aufl.

KÜSTER, E., 1925: Pathologische Pflanzenanatomie. Jena.

KRENKE, N. P., 1933: Wundkompensation, Transplantation und Chimären bei Pflanzen. Berlin.

LONG, W. H., 1918: An undescribed canker of poplars and willows caused by *Cytospora chrysosperma*. J. Agric. Res. **13**, 331—345.

MOSS, E. H., 1922: Observation on two poplar cankers in Ontario. Phytopath. Z. **12**, 425—427.

MÜHLDORF, R., 1925: Über den Ablösungsmodus der Gallen von ihren Wirtspflanzen nebst einer kritischen Übersicht über die Trennungserscheinung im Pflanzenreich. Beih. Bot. Ctrbl. Abt. I, **42**, 1—110.

MÜLLER-STOLL, W. R. u. HARTMANN, U., 1950: Über den *Cytospora*-Krebs der Pappel (*Valsa sordida* Nitschke) und die Bedingungen für eine parasitäre Ausbreitung. Phytopath. Z. **16**, 446—478.

MÜNCH, E., 1909: Untersuchungen über Immunität und Krankheitsanfälligkeit der Holzpflanzen. Naturwiss. Z. f. Forst- u. Landwirtsch. **7**.

— —, 1910: Versuche über Baumkrankheiten. Naturwiss. Z. f. Forst- u. Landwirtsch. **8**.

— —, 1929: Über einige Grundbegriffe der Phytopathologie. Z. Pflanzenkrht. **39**, 276—286.

PFEIFFER, H., 1928: Die pflanzlichen Trennungsgewebe aus: Handbuch der Pflanzenanatomie. Bd. V. Berlin.

RUBIN, B. A., und ARZICHOWSKAJA, E. W., 1953: Biochemische Charakteristik der Widerstandsfähigkeit der Pflanzen gegenüber Mikroorganismen. Akademie-Verlag, Berlin.

RUMPF, G., 1904: Rhizodermis, Hypodermis und Endodermis der Farnwurzel. Diss. Marburg.

SCHMIDLE, A., 1953 a: Die *Cytospora*-Krankheit der Pappel und die Bedingungen für ihr Auftreten. Phytopath. Z. **21**, 83—96.

— —, 1953 b: Zur Kenntnis der Biologie und der Pathogenität von *Dothichiza populea* Sacc. et Briard, dem Erreger eines Rindenbrandes der Pappel. Phytopath. Z. **21**, 189—209.

SCHÖNHAR, S., 1953: Untersuchungen über die Biologie von *Dothichiza populea* (Erreger des Pappelrindentodes). Forstw. Cbl. **72**, 358.

SCHREINER, E. J., 1931: Two species of *Valsa* causing disease on Populus. Amer. J. Bot. **18**, 1—29.

VAN VLOTEN, H., 1938: De Ziekte van populieren veroonzaakte door *Dothichiza populea* Sacc. et Briard. Jb. Ned. Dendrol. Ver. 72—75.

Aus der Eidgenössischen Anstalt für das forstliche Versuchswesen, Zürich
Direktor: Prof. Dr. A. Kurth

Über tannin- und phenolspaltende Fermente von *Endothia parasitica*

Von

G. Bazzigher

Mit 9 Abbildungen

Inhalt: A. Einleitung und Problemstellung. — B. Methodik. I. Versuchsmaterial. II. Die papierchromatographische Testmethode. — C. Versuche. I. Nachweis von tanninspaltenden Fermenten in Pilzkulturen. a) Tannin als Fermentsubstrat; b) Gallussäureester als Fermentsubstrat; c) Die Identität des Enzyms; d) Esterasewirkung in Abhängigkeit von der Einwirkungsdauer; e) Esterasewirkung in Abhängigkeit von der Einwirkungstemperatur; f) Esterase, ein adaptives Enzym von *Endothia parasitica*; g) Inhibitoren und Aktivatoren. II. Nachweis von Esterasen in vivo. III. Der Abbau von Tanninen in vivo. IV. Die Toxizität von Tanninen gegenüber *Endothia parasitica*. V. Die Toxizität von Phenolen gegenüber *Endothia parasitica*. VI. Phenolasen in Pilzkulturen. a) Peroxydase-Aktivität in *Endothia*-Kulturen; b) Polyphenoloxydase in Pilzkulturen; c) Die Identität der Polyphenoloxydase; d) Cu als Aktivator der Polyphenoloxydase; e) Die *Endothia*-Laccase als ein konstitutives Enzym. VII. Phenolasen in der Wirtspflanze. a) Nachweis von Peroxydase in der Wirtspflanze; b) Polyphenoloxydase-Wirkung als Wundreaktion bei *Castanea sativa*; c) Polyphenoloxydase-Wirkung in gesunden und kranken Wirtsgeweben. VIII. Andere am Abbau von Tanninen und Phenolen beteiligte Enzyme. IX. Fermentativer Abbau von Anthocyanen. — Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

A. Einleitung und Problemstellung

„Die Resistenz beruht auf körperlichen oder entwicklungsgeschichtlichen Besonderheiten, die als solche vererbt werden und deshalb über einen gewissen Schwankungsbereich hinaus (Disposition) unveränderlich sind" (Gäumann, 1951). Die Gebundenheit der Axenie an die genetische Struktur gibt die Möglichkeit zur Resistenzzüchtung. Diese verspricht jedoch erst dann einen Erfolg, wenn man die Faktoren, die zu dieser Resistenz führen, wenn man die Grundlagen kennt. In einigen Fällen wird die Ausbreitungsresistenz durch chemische Besonderheiten der Zellinhalte bedingt. Auf den Zusammenhang von Tannin- und Phenol-Gehalt pflanzlicher Gewebe und ihrer Inhospitalität ist schon verschiedentlich hingewiesen worden (Cook und Taubenhaus, 1911; Cook, Bassett, Thompson und Taubenhaus, 1911; Newton und

ANDERSON, 1929; WALKER, 1924, u. a.). NIENSTAEDT (1953) schreibt die Resistenzunterschiede von *Castanea dentata* und *Castanea mollissima* gegenüber *Endothia parasitica* der Verschiedenheit ihrer Tannine zu. Diese werden in unterschiedlich wirksame Phenole aufgespalten, wobei die Phenole des *Mollissima*-Tannins toxischer auf den Krankheitserreger wirken als die des *Dentata*-Tannins. Diese Aufspaltung der Gerbstoffe wird durch die Fermente des Erregers bewirkt, so daß man von einer eigentlichen Selbstvergiftung des Parasiten sprechen kann.

Tannasen und Esterasen sind solche tanninspaltende Enzyme. *Aspergillus niger, Citromyces-* und *Penicillium*-Arten bilden sie in reichlicher Menge (HOFFMANN-OSTENHOF, 1954).

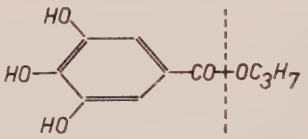

Abb. 1. Die Spaltung von Gallussäureestern durch Tannasen und Esterasen

Die Hypothese von NIENSTAEDT ist von großer phytopathologischer Bedeutung und eine genauere Untersuchung der Fermentwirkung von *Endothia parasitica* daher unbedingt wünschenswert. In der folgenden Darstellung wird eine Methode gezeigt, welche die Wirkung von tanninspaltenden Enzymen zu verfolgen gestattet. Diese Arbeit soll im weiteren klären, ob *Endothia parasitica* solche Fermente bildet und ob die Spaltprodukte wirklich das Pilzwachstum in so starkem Maße hemmen, daß der Enzymmechanismus einen Resistenzfaktor darstellen könnte. Beim Studium dieses Mechanismus wurde auch die Wirkung der Polyphenoloxydasen berücksichtigt, da sich in diesem Zusammenhang neue Gesichtspunkte ergeben.

Ich möchte an dieser Stelle den Herren Prof. Dr. H. BURGER, Prof. Dr. A. KURTH und Prof. Dr. E. GÄUMANN für die mir zur Verfügung gestellten Materialien, Laboreinrichtungen und Versuchsräume meinen besten Dank aussprechen. Für die wertvollen Ratschläge von Herrn Prof. Dr. E. GÄUMANN und Herrn Dr. SANWAL sowie für die Mithilfe von Fräulein E. AMACHER sei hier ebenfalls recht herzlich gedankt.

B. Methodik

I. Versuchsmaterial

Enzym: *Endothia parasitica* (Murr.) And. wurde in flüssigem KYG-Nährmedium (BAZZIGHER, 1953) mit einem Zusatz von 1 ‰ Kastanien-Tannin (wässeriger Rohextrakt) jeweils in der optimalen Temperatur von 27° C kultiviert. Nach dreiwöchigem Wachstum wurden die Kulturen geerntet, mit einer äquivalenten Menge Aceton versetzt und gut durchgeschüttelt. Das nach dem Filtrieren im Faltenfilter gut ausgepreßte zurückbleibende Myzel (in den folgenden Versuchen EPM genannt) enthält alle für unsere Arbeiten benötigten Enzyme. Es wurde für jeden Versuch jeweils frisch hergestellt und sofort verwendet.

Fermentsubstrate: Als Testsubstanz diente Tannin, das im Soxhlet-Extraktionsapparat mit 80 % Äthanol nach dreitägiger Extraktion aus Kastanienholz und -rinde gewonnen wurde. Der Alkoholextrakt wurde im Vakuum eingedickt und mit der äquivalenten Menge HOH gelöst. Auf diese Weise wurden Tanninlösungen aus *Castanea sativa* und aus *Castanea mollissima* hergestellt. Außer mit diesem Gerbstoff wurde in der Hauptsache mit Gallussäure-Methylester, Gallussäure-n-Butylester und Gallussäure-n-Propylester (Fluka, SG) gearbeitet. Die Konzentration der Testlösungen wurde jeweils so gewählt, daß sie für die Prüfung im Chromatogramm möglichst günstig war. In den folgenden Versuchen wurden diese Testsubstanzen zur Vereinfachung mit folgenden Buchstaben bezeichnet: T = Tannin; A = Gallussäure; B = Gallussäure-Methylester; C = Gallussäure-n-Butylester; P = Gallussäure-n-Propylester; Br = Brenzkatechin; Py = Pyrogallol; Hy = Hydrochinon.

II. Die papierchromatographische Testmethode

Der Nachweis von Tanninen und Phenolen ist mit verschiedenen Methoden möglich. Für die folgenden Versuche wurde die Papierchromatographie verwendet. Die Substanzen lassen sich mit einer ganzen Reihe verschiedenster Lösungsmittel chromatographieren, wie z. B. Butanol-Eisessig-HOH (diese Lösung wurde u. a. in den vorliegenden Versuchen verwendet), m-Kresol-Eisessig-HOH, Benzol-Eisessig-HOH u. a. (Lederer, 1954; Cramer, 1952). Es sei hier noch auf eine neue Möglichkeit der papierchromatographischen Trennung von Phenolen und Tanninen hingewiesen:

Adsorbtionschromatographie von Phenolen mit Papier:

1. Papier: Whatman Nr. 1.
2. Lösungsmittel: Phosphatpuffer nach Soerensen (Klein, 1932) mit Zusatz von 1 ‰ Ferrichlorid. Der Niederschlag wird abfiltriert. Dem Filtrat wird eine Spur Thymol zur Verhinderung von Bakterienwachstum zugesetzt.
   Es ist noch eine Anzahl weiterer wässeriger Lösungsmittel für das Chromatographieren von Phenolen verwendbar, so z. B. eine 2%ige Komplexon-III-Wasser-Lösung (Komplexon III von der Siegfried AG, Zofingen), 3%ige wässerige NaCl-Lösung, ferner wässerige Lösungen mit oberflächenaktiven Substanzen (Netzmittel).
   Für die folgenden Versuche wurde von diesen wässerigen Lösungsmitteln nur die Phosphatpuffer-Eisen-Lösung verwendet. Mit ihr erzielt man eine genügend scharfe Trennung der Gallussäure von ihren Estern.
3. Chromatographie-Methode: Auf- oder absteigend in einem offenen Gefäß.
4. Entwickeln: Es wurden die üblichen Reagenzien verwendet, wie Ferrichlorid, Diazotierung mit Sulfanilsäure, Silbernitrat-Lösung usw.

Der Hauptvorteil dieser Methode liegt darin, daß mit ihr sehr rasch gearbeitet werden kann (Laufzeit des Chromatogrammes: 1/2 bis 1 Stunde) und daß die Trennung einiger Substanzen eher noch schärfer ist als mit den üblichen Lösungsmitteln. Da man nicht in gesättigter Atmosphäre arbeitet, muß man stärkere Verschiebungen der Rf-Werte bei zunehmender Laufdauer mit in Kauf nehmen. Es darf also nur im gleichen Chromatogramm mit Vergleichssubstanzen verglichen werden. Es sei hier noch nebenbei bemerkt, daß sich auch Anthocyane mit dieser Methode chromatographieren lassen.

C. Versuche

I. Nachweis von tanninspaltenden Fermenten in Pilzkulturen

a) Tannin als Fermentsubstrat

1. Versuch: Je 20 ml wässerige Tannintestlösung (T-*Castanea sativa* und T-*Castanea mollissima*) wurden in Erlenmeyerkolben (50 ml vol.) verteilt. In einem Teil der Kolben wurden je 2 g Myzelpräparat (EP M) von *Endothia parasitica* hinzugesetzt, der andere Teil blieb als Kontrolle myzelfrei. Nach drei- bis zehntägiger Inkubationszeit bei 27 ° C wurden vergleichbare Mengen der Lösungen im Chromatogramm geprüft.

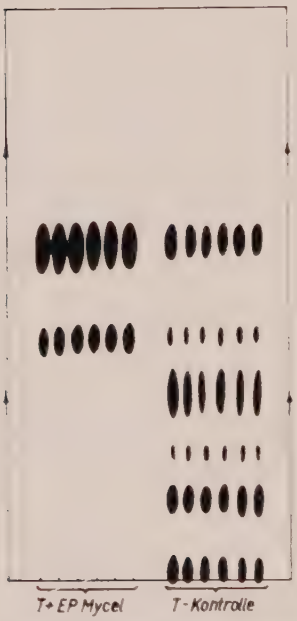

Abb. 2. Die enzymatische Spaltung von Tannin durch *Endothia parasitica* (Tannin von *Castanea sativa*). Fermenteinwirkung = 2 Tage bei 50 ° C. Papier = Whatman Nr. 1. Lösungsmittel = n-Butanol : Eisessig : HOH = 4 : 1 : 5. Reagenz = ammoniakalische Silbernitratlösung. Kopie des Chromatogrammes auf 1/4 verkl.

Ergebnis: Abb. 2 zeigt die fermentative Spaltung des Tannins. Das Fermentsubstrat dieses Versuches, das Tannin, ist hier nicht genau definiert. Es ist ein Rohextrakt, welcher aus verschiedenen Gerbstoffen, gerbstoffähnlichen Substanzen und weiteren Beimengungen besteht. Das eindimensionale Chromatogramm (sowohl mit Butanol-Eisessig-HOH-Lösung als auch mit Phosphatpuffer-Eisen-Lösung) gestattet uns nicht, diese verschiedenen Komponenten genügend auseinanderzuhalten. Es wurde deshalb der gleiche Versuch mit der zweidimensionalen Methode wiederholt.

2. Versuch: Versuchsanordnung gleich wie Versuch 1. Inkubationstemperatur: 50 ° C. Inkubationsdauer: Zwei Tage und sechs Tage. Die Lösungen wurden mit der zweidimensionalen Papierchromatographie geprüft: Ein Tropfen der Lösung wurde in einer Ecke eines quadratischen Whatman-Nr. 1-Papierbogens aufgetragen und in einer Richtung mit n-Butanol : Eisessig : HOH = 4 : 1 : 5 und in der zweiten Richtung mit Phosphatpuffer-Eisen-Lösung chromatographiert. Die Reaktion mit ammoniakalischer Silbernitratlösung

und die Diazotierung mit Sulfanilsäure dienten für die Sichtbarmachung der einzelnen Substanzen im Chromatogramm.

Ergebnis: Abb. 9 zeigt die Chromatogramme von *Castanea sativa*-Tannin vor (I und II) und nach der enzymatischen Aufspaltung (III). Das in unserem Versuch verwendete Tannin konnte mit dieser Methode in 14 bis 16 verschiedene Komponenten zerlegt werden (Substanz A = Gallussäure; die anderen wurden nicht identifiziert). Elf Substanzen wurden nach zwei Tagen fermentativ (durch EP M) abgebaut und waren im Chromatogramm nicht mehr festzustellen. Anderseits konnte das Auftreten einer neuen Komponente (vermutlich ein Phenol) als Abbauprodukt beobachtet werden. Bei länger dauernder Fermentwirkung ist im Chromatogramm nichts mehr nachweisbar — alle Gerbstoffe und Phenole sind abgebaut. — *Castanea mollissima*-Tannin wurde auf gleiche Weise geprüft. Unterschiede konnten nicht festgestellt werden, doch müßten diese Untersuchungen in größerer Zahl wiederholt werden, um statistisch gesicherte Resultate zu erhalten.

b) Gallussäureester als Fermentsubstrat

3. Versuch: Tannasen und Esterasen vermögen außer Tannin auch Gallussäureester zu spalten. Um eine für unsere Arbeiten günstige Testsubstanz zu finden, wurden mit verschiedenen solchen Estern vorbereitende Versuche durchgeführt. Gallussäure-Methylester, Gallussäure-n-Butylester und Gallussäure-n-Propylester dienten als Substrat zur Prüfung der Fermentaktivität von *Endothia parasitica* (EP M-Präparat). Einwirkungstemperatur: 27° C. Einwirkungsdauer: Ein bis drei Tage. Die Kontrollen im Chromatogramm wurden zu verschiedenen Zeiten durchgeführt.

Abb. 3. Die enzymatische Spaltung von Gallussäure-n-Propylester (= P). A= abgespaltene Gallussäure. Ferment = EP M-Präparat. Lösungsmittel = Phosphatpuffer-Eisen-Lösung. Papier = Whatman Nr. 1. Reagenz = ammoniakalische Silbernitratlösung. Photo auf ½ verkl.

Ergebnis: Alle obenerwähnten Substrate erwiesen sich für die Versuche als durchaus geeignet. Diese Ester besitzen im Chromatogramm mit Butanol : Eisessig : HOH größere Rf-Werte (etwa 0,9), im Chromatogramm mit Phosphatpuffer-Eisen-Lösung kleinere Rf-Werte als die Gallussäure. Abb. 3 zeigt die enzymatische Spaltung von Gallussäure-n-Propylester durch die *Endothia*-Fermente.

c Die Identität des Enzyms

4. Versuch: Verschiedene Fermente vermögen Tannine zu spalten. Es sind dies Tannasen und Esterasen. Esterasen werden durch Alkalien zerstört, Tannasen nicht. Dies kann zur Identifizierung des Enzyms dienen (Fosten, 1949). Aktives Myzel wurde zehn Minuten bei 40 ° C auf pH 8,9 gehalten, dann neutralisiert und geprüft und gleichzeitig mit unbehandeltem Myzel verglichen.

Ergebnis: Das Enzym wird durch diese Behandlung zerstört. Demnach handelt es sich bei dem *Endothia*-Ferment um eine Esterase.

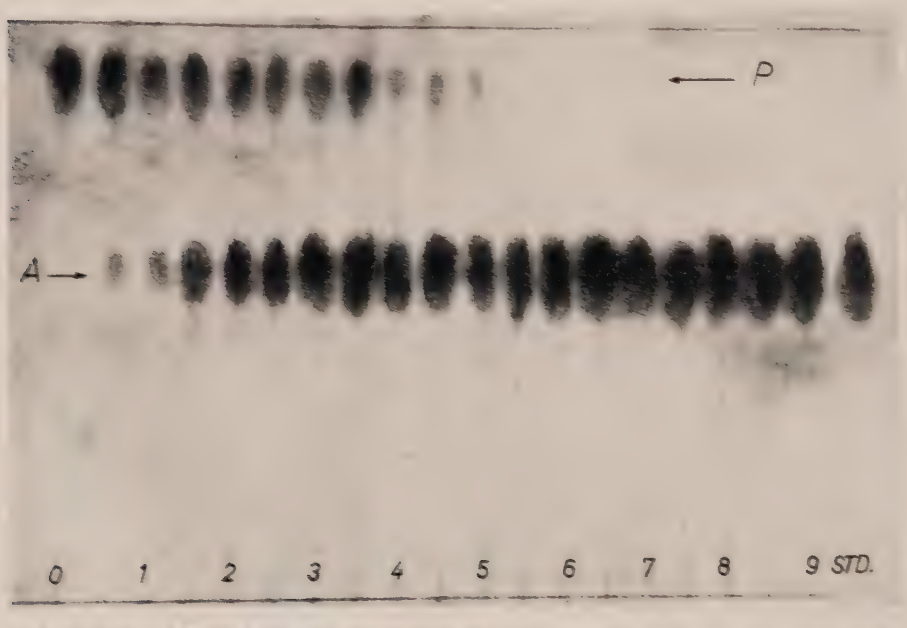

Abb. 4. Die Abhängigkeit der enzymatischen Aktivität von der Einwirkungsdauer. Enzym = *Endothia*-Esterase (EP M-Präparat). Substrat = Gallussäure-n-Propylester (= P). A = Gallussäure. Papierchromatogramm auf Whatman Nr. 1. Lösungsmittel = n-Butanol / Eisessig / HOH = 4 : 1 : 5. Reagenz = ammoniakalische Silbernitratlösung. Photo auf ½ verkl.

d Esterasewirkung in Abhängigkeit von der Einwirkungsdauer

5. Versuch: Um die Spaltung von Gallussäureestern zeitlich zu verfolgen, wurden während der Einwirkung des Enzyms periodisch Proben entnommen und der Versuch auf diese Weise zeitlich kontrolliert. Die Fermenteinwirkung erfolgte bei 27 ° und bei 50 ° C. Als Substrat für das Ferment diente Gallussäure-n-Propylester. Enzym = EP M-Präparat. Die entnommenen Proben wurden auf ein und demselben Papier chromatographiert.

Ergebnis: Abb. 4 zeigt die zunehmende Abspaltung von Gallussäure bei 50 ° C. Die Abspaltungsgeschwindigkeit ist hier ungefähr zehnmal größer als bei 27 ° C.

e) Esterasewirkung in Abhängigkeit von der Einwirkungstemperatur

6. Versuch: Aktives Myzel von *Endothia parasitica* (EP M) wurde in 50 ml-Erlenmeyerkolben, die je 20 ml einer Gallussäure-n-Propylester-Lösung (P) enthielten, verteilt. Die so vorbereiteten Erlenmeyerkolben wurden in verschiedene Temperaturen von 6 ° bis 60 ° C gestellt. Nach dreitägiger Inkubation wurde im Chromatogramm geprüft.

Ergebnis: Das Chromatogramm (siehe Abb. 5) zeigt, daß die Esterase über den ganzen Temperaturbereich von 6 ° bis 60 ° C wirken kann. Die Geschwindigkeit der enzymatischen Abspaltung nimmt mit zunehmender Temperatur zu.

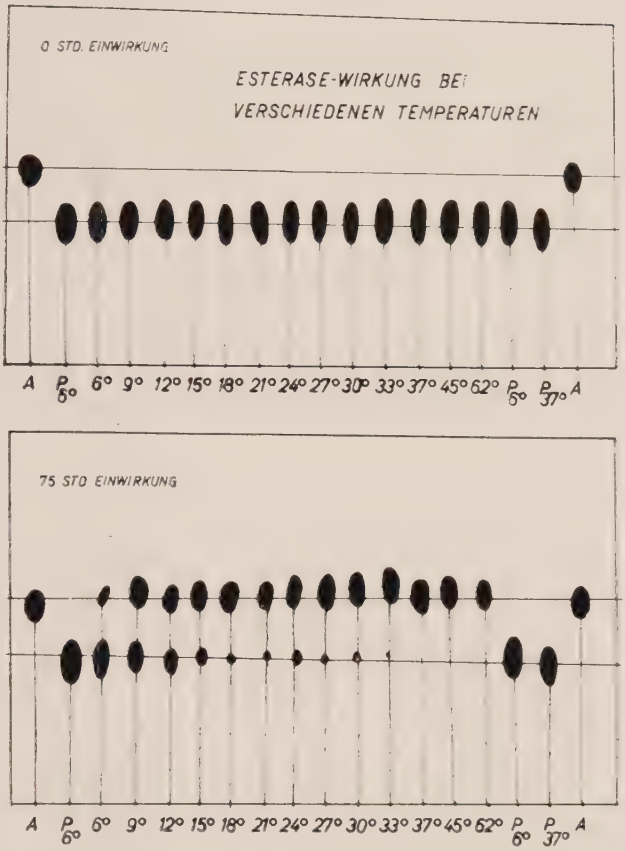

Abb. 5. Die Wirkung der *Endothia*-Esterase auf Gallussäure-n-Propylester in Abhängigkeit von der Einwirkungstemperatur. A = Gallussäure. P = Gallussäure-Ester. Kontrollen (= P_{6^0}, P_{37^0}) = Gallussäureester ohne Enzymzusatz wurde in 6 ° C und in 37 ° C gehalten. 6 bis 62 ° C = Temperaturen, bei denen die Einwirkung des Enzyms (EP M-Präparat) auf den Gallussäureester erfolgte. Papierchromatogramm auf Whatman Nr. 1. Lösungsmittel = n-Butanol : Eisessig : HOH = 4 : 1 : 5. Chromatogrammkopie = 2/7 nat. Größe

f) Esterase, ein adaptives Enzym von Endothia parasitica

7. Versuch: *Endothia parasitica* (Murr.) And. wurde auf KYG mit 1 ‰ Tannin (siehe Methodik) und auf KYG ohne Tannin kultiviert und nach drei Wochen Kulturdauer bei 27 ° C, wie üblich, auf Esteraseaktivität geprüft.

Ergebnis: Wächst *Endothia parasitica* in einem Substrat, das 1 ‰ Gerbstoff enthält, so weist das Myzel eine starke Esteraseaktivität auf, während auf tanninfreiem Nährboden das Ferment nicht gebildet wird, d. h. nicht meßbar festzustellen ist. Demnach würde es sich hier, wie bei der Tannase, um ein sogenanntes adaptives Enzym handeln.

g) Inhibitoren und Aktivatoren

8. Versuch: *Endothia parasitica*-Myzel (EP M) wurde in gleichen Mengen (je 2 g) in 50 ml-Erlenmeyerkolben mit je 20 ml Gallussäure-n-Propylester-Lösung verteilt. Diese Kolben erhielten einen Zusatz einer als Aktivator oder Inhibitor in Frage kommenden Substanz (zugesetzte Menge = 10^{-4}). Die untersuchten Chemikalien sind in Tabelle 1 angegeben. Die Einwirkung erfolgte bei 37 ° C. Nach 14 und 24 Stunden wurde im Chromatogramm kontrolliert.

Ergebnis: Das Ergebnis dieses Versuches ist in Tabelle 1 ersichtlich. Als Aktivatoren kommen verschiedene Substanzen in Frage, während eine deutliche Hemmung nirgends festzustellen war.

Tabelle 1

Einfluß von verschiedenen Chemikalien auf die Aktivität der *Endothia*-Esterase

Zugesetzte Chemikalien	Wirkung nach	
	14 Stunden	24 Stunden
Ohne Zusatz	normal	normal
Kupfersulfat	normal	schwache Hemmung
Manganchlorid	normal	schwache Hemmung
Lithiumsulfat	Beschleunigung	Beschleunigung
Kaliumbromid	Beschleunigung	Beschleunigung
Ferrichlorid	Beschleunigung	Beschleunigung
Cyankali	schwach beschleunigt	schwache Hemmung

Ein weiterer Versuch zeigte, daß Esterase, die durch Alkalien (wie Versuch 4) inaktiviert wurde, durch Kupferzusatz (10^{-3}) wieder reaktiviert werden kann, während die Wirkung einer normalaktiven Esterase dadurch nicht verstärkt wird. — Diese Versuche, die als Tastversuche gedacht sind, zeigen, daß die Fermentwirkung durch Spuren von verschiedenen Chemikalien beschleunigt oder gebremst werden kann. Auch die später zu besprechende Polyphenoloxydase kann ähnlich beeinflußt werden. In einem multiplen Enzymsystem, d. h. in einem Komplex hintereinandergeschalteter zusammengehörender Fermente können solche Aktivatoren und Inhibitoren Gleichgewichtsstörungen hervorrufen, die zu Stauungen von Zwischenprodukten führen können.

Durch die eben besprochenen Versuche wurde der Nachweis eines tanninspaltenden Fermentes in Pilzkulturen, d. h. in vitro erbracht. Es ist nun von großem Interesse, die Fermentwirkung von *Endothia parasitica* in vivo, d. h. als Parasit im Wirtsgewebe zu studieren.

II. Nachweis von Esterasen in vivo

9. Versuch: Rindenstücke von einer gesunden Stelle (= ^{C}gesund) und von einer Läsionsstelle (= ^{C}EP-Läsion) einer endothiakranken *Castanea sativa* wurden in je gleichen Mengen in Erlenmeyerkolben (50 ml vol.) mit 20 ml einer Gallussäure-n-Propylester-Lösung verteilt, dann drei Tage bei 27 ° C inkubiert. Nach dieser Zeit wurde im Chromatogramm geprüft.

Ergebnis: Abbildung 6 zeigt die Esterasewirkung des Rindenstückes aus der Läsionsstelle und als Vergleich die fehlende Wirkung des gesunden Kontrollrindenstückes.

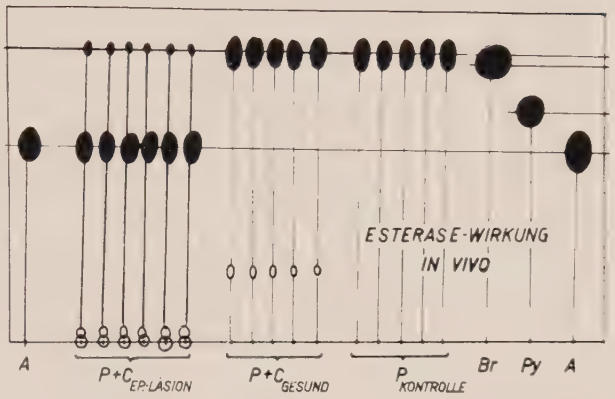

Abb. 6. Die Esterase-Wirkung in vivo. A = Gallussäure. P = Gallussäure-n-Propylester. Br = Brenzkatechin. Py = Pyrogallol. CEP-Läsion = Kastanien-Rindenstück von kranker Stelle. Cgesund = Kastanien-Rindenstück von gesunder Stelle. Papierchromatogramm mit Whatman Nr. 1. Lösungsmittel = n-Butanol : Eisessig : HOH = 4 : 1 : 5. Reagenz = ammonikalische Silbernitratlösung. Chromatogrammkopie = 2/7 nat. Größe

Wir sehen hier, daß endothiakranke Gewebe von *Castanea sativa* eine starke Esteraseaktivität aufweisen, während in gesunden Geweben keine solche festzustellen ist. Man darf also wohl annehmen, daß das Enzym durch den Pilz produziert wird. Es scheint, daß die Enzymwirkung ziemlich streng auf die Läsion beschränkt bleibt, also nur eine lokalisierte Aktion besitzt.

Der Versuch Nr. 9 gestattet wohl den Nachweis des Esterase in vivo an Hand einer Testsubstanz (an Hand eines wirtsfremden Fermentsubstrates); die Wirkung des Fermentes auf das Wirtssubstrat wird hier nicht charakterisiert. Dies geschieht im folgenden Versuch.

III. Der Abbau von Tanninen in vivo

10. Versuch: In Versuch Nr. 1 und 2 wurde gezeigt, wie die Kastanientannine in vitro abgebaut werden. In vivo haben wir insofern eine andere Situation, als hier ein ständiger Substratnachschub erfolgt, während in vitro eine bestimmte Menge abgebaut wird und verschwindet. Zudem ist es möglich, daß auch in qualitativer Hinsicht Unterschiede zwischen den extrahierten Tanninen und den nativen Gerbstoffen vorhanden sind. Es ist zu erwarten, daß in lädierten Geweben auch bei sehr starker Fermentwirkung immer eine kleine Menge frisch herbeigeführter Gerbstoffe zu finden ist. Um diese nachzuweisen, wurden im Papierchromatogramm wie in Versuch Nr. 2 (zweidimensional) Tanninextrakte (mit 80 % Äthanol extrahiert) aus einem Rindenstück, das von *Endothia*-Myzel stark durchwuchert war, mit solchen aus einem gesunden Rindenstück verglichen.

Ergebnis: Abb. 9 (IV) zeigt das Bild des Tannins aus lädierten Geweben. Es sind hier sämtliche Gerbstoffkomponenten abgebaut, mit Ausnahme von zwei bis drei Substanzen mit kleinen Rf-Werten. Diese sind in unseren Versuchen nicht näher identifiziert worden. Dieser Versuch zeigt einen überraschend starken fermentativen Abbau durch die Enzyme von *Endothia para-*

sitica in den Kastaniengeweben. Die Wirkung scheint allerdings lokal stark begrenzt zu sein. Die Gewebe außerhalb der Läsionsstelle enthalten Tannin in mehr oder weniger normaler Zusammensetzung.

IV. Die Toxizität von Tanninen gegenüber *Endothia parasitica*

Da wir die einzelnen Tanninkomponenten nicht kennen, kann nur der gesamte Tanninkomplex auf seine fungistatische Wirkung hin geprüft werden. Die Versuchsfrage, die wir uns stellten, lautet: welcher Unterschied in der Toxizität ist bei abgebauten und nicht abgebauten Tanninen festzustellen?

11. Versuch: Die zu untersuchenden Tanninlösungen stammen aus Versuch Nr. 2: nicht abgebautes Tannin (Kontrolle) und Tannin, das zwei Tage bei 50 ° C der fermentativen Einwirkung von *Endothia parasitica* ausgesetzt war. Es wurden Gerbstoffe von *Castanea sativa* und von *Castanea mollissima* geprüft. Da *Endothia parasitica* relativ langsam wächst, eignete sich dieser Pilz nicht für die Prüfung der Toxizität dieser Lösungen, da während dieses langsamen Wachstums eine bedeutende Veränderung des Substrates durch den dauernden Nachschub an Enzymen stattfindet. Als Testorganismus mußte deshalb ein sehr raschwachsender Pilz verwendet werden. Sehr gut eignete sich für diesen Zweck der Myzelwachstumstest nach GROSSER (1947) mit *Rhizoctonia solani* Kühn Stamm Grodsinsky.

Ergebnis: Das Kontrolltannin (sowohl von *Castanea sativa* als auch von *Castanea mollissima*) ist ungefähr achtmal toxischer als die durch *Endothia parasitica*-Fermente abgebauten Gerbstoffe.

V. Die Toxizität von Phenolen gegenüber *Endothia parasitica*

12. Versuch: Petrischalen mit Malzagar, die die zu prüfenden Phenole (Gallussäure, Pyrogallol und Brenzkatechin) in verschiedenen Konzentrationen enthielten, wurden mit *Endothia parasitica* beimpft. Nach einwöchiger Inkubation bei 27 ° C wurden die Kulturdurchmesser ermittelt und verglichen.

Ergebnis: Die größte Toxizität weisen Pyrogallol und Brenzkatechin auf mit einer 50%igen Hemmung des Myzelwachstums durch eine $2{,}5 \times 10^{-3}$ molare Lösung. Gallussäure wirkt in einer 10^{-2} molaren Lösung nicht schädigend auf *Endothia parasitica*.

In dieser ersten Versuchsreihe wurde der Nachweis tanninspaltender Fermente von *Endothia parasitica* in vitro und in vivo erbracht. In der folgenden zweiten Serie von Versuchen wird gezeigt, daß diese Spaltprodukte einem weiteren fermentativen Abbau unterliegen, so daß diese als Resistenzfaktoren kaum in Frage kommen können.

VI. Phenolasen in Pilzkulturen

Frühere Versuche ließen die Wirkung von Phenolasen vermuten (Versuch Nr. 2 und Versuch Nr. 10). Der Abbau von Phenolen muß einem zweiten im

Endothia-Myzel vorhandenen Enzym zugeschrieben werden. In Frage kommen hier Phenolasen, was in den folgenden Versuchen über Peroxydase und Polyphenoloxydasen bestätigt wird.

a) Peroxydase-Aktivität in Endothia-Kulturen

13. Versuch: Um Katalase und Peroxydase auseinander zu halten, wurde die Methode von Bokuchava et al. (Glick, 1954) verwendet. Vorbehandeltes *Endothia parasitica*-Myzel (EP M) (je 2 g) wurde in folgende Testlösungen (je 20 ml) gebracht:

1. Erlenmeyerkolben mit EP M + 1 ‰ Pyrogallol,
2. Erlenmeyerkolben mit EP M + 1 ‰ Pyrogallol + H_2O_2,
3. Erlenmeyerkolben mit EP M + 1 ‰ Pyrogallol + H_2O_2 + $NaNO_3$ 1 molar.

Die Kolben 1 dienen als Kontrolle gegenüber 2 und 3. Kolben 2 dienen zur Prüfung von Katalase und Peroxydase. Kolben 3 gestatten ausschließlich die Peroxydaseaktivität zu erfassen, da Katalase durch 1 Mol. $NaNO_3$ zu 98 bis 100 % gehemmt wird.

Ergebnis: Es sind sowohl in Kolben 2 und 3 Fermentaktivität festzustellen, d. h. es handelt sich bei diesem Ferment von *Endothia parasitica* um Peroxydase.

b) Polyphenoloxydase in Pilzkulturen

14. Versuch: Eine weit größere Bedeutung als der Peroxydase muß den Polyphenoloxydasen zugesprochen werden. Um die Abhängigkeit der Polyphenoloxydasewirkung von der Einwirkungszeit zu erfassen, wurde folgender Versuch angesetzt: EP M (*Endothia*-Myzel) wurde in Erlenmeyerkolben mit 20 ml Pyrogallol gegeben und bei 27° C inkubiert. Nach gewissen Zeitabständen wurden Proben entnommen und auf das Chromatographiepapier aufgetragen. Alle Proben wurden auf ein und demselben Papier chromatographiert. Als Lösungsmittel diente Phosphatpuffer-Eisen-Lösung.

Ergebnis: Abb. 7 zeigt die Polyphenoloxydase-Wirkung nach 0, 14, 24, 38, 48, 62 und 86 Stunden Einwirkungszeit. Die Pyrogallolmengen verschwinden sukzessive.

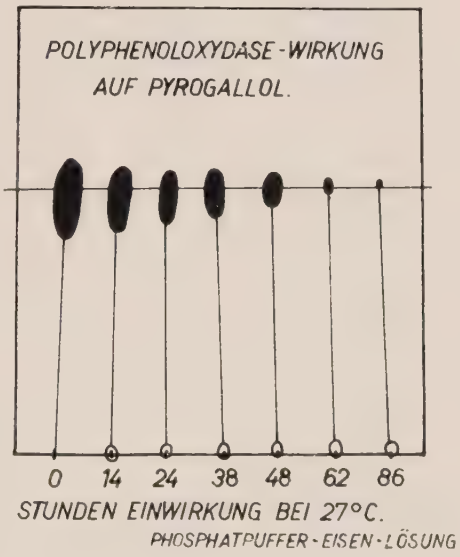

Abb. 7. Die Abhängigkeit der Polyphenoloxydase-Aktivität von der Einwirkungszeit. Enzympräparat = EP M. Fermentsubstrat = Pyrogallol. Papierchromatogramm auf Whatman Nr. 1. Lösungsmittel = Phosphatpuffer-Eisen-Lösung. Reagenz = ammoniakalische Silbernitratlösung. Chromatogrammkopie = ½ nat. Größe

c) Die Identität der Polyphenoloxydase

15. Versuch: Nach HOFFMANN-OSTENHOF (1954) werden Phenoloxydasen des Typus „Tyrosinase" und derjenige des Typus „Laccase" hauptsächlich dadurch unterschieden, daß p-Diphenole, wie z. B. Hydrochinon von der Tyrosinase nicht angegriffen werden, wohl aber von der Laccase. Zur Messung der Aktivität des Fermentes und zu dessen Identifizierung wurden folgende Substrate verwendet: Hydrochinon, p-Phenylendiamin, Pyrogallol, Brenzkatechin, Resorcin und p-Kresol. 20 ml wässerige Lösungen dieser Testsubstanzen wurden jeweils 2 g EP M hinzugefügt. Die Einwirkung des Enzyms erfolgte bei 27 ° C während drei Tagen.

Ergebnis: Alle die obenerwähnten Substanzen wurden abgebaut mit Ausnahme von Resorcin und p-Kresol. Daraus läßt sich schließen, daß aller Wahrscheinlichkeit nach eine Polyphenoloxydase des Laccase-Typus vorliegt.

d) Cu als Aktivator der Polyphenoloxydase

Tyrosinase und Laccase sind Cu-Enzyme. Es ist nachgewiesen worden, daß ihre Aktivität vom Cu-Gehalt stark abhängig ist. Der Kupfergehalt der Tyrosinase schwankt zwischen 0,2 und 0,3 %. Tissières (HOFFMANN-OSTENHOF, 1954) gelang es durch Abspaltung des Kupfers mit alkalischem Cyanid die Laccase zu inaktivieren. Durch Zugabe von Cu^{++} konnte das Ferment wieder aktiviert werden. Nach Bertrand (HOFFMANN-OSTENHOF, 1954) enthält die Laccase neben Cu hauptsächlich Mangan. Im Rahmen unserer Arbeit interessierte es, Ferment-Aktivatoren und Inhibitoren kennenzulernen. Folgender Versuch orientiert über die Wirkung von Kupfer auf das Enzym.

16. Versuch. In Erlenmeyerkolben mit je 20 ml Pyrogallollösung wurde EP M und Zusätze von verschiedenen Chemikalien (gleiche Anordnung wie Versuch Nr. 8) gegeben.

Ergebnis: Es wurde festgestellt, daß C^{++}-Zusatz (10^{-4}) die Laccase-Aktivität bedeutend zu steigern vermag. Die Wirkung der anderen Chemikalien ist hingegen nicht eindeutig.

e) Die Endothia-Laccase als ein konstitutives Enzym

17. Versuch: Während die *Endothia*-Esterase zu den adaptiven Enzymen gehört, muß man die Laccase zu den konstitutiven Enzymen zählen. Der Versuch, der zu diesem Schluß führte, wurde in gleicher Weise ausgeführt wie Versuch Nr. 7.

VII. Phenolasen in der Wirtspflanze

a) Nachweis von Peroxydase in der Wirtspflanze

18. Versuch: Ein frisch abgeschnittenes Zweigstück von *Castanea sativa* wurde zerkleinert und im Mörser grob zerrieben. Von diesem Material wurden je 5 g in zwei Erlenmeyerkolben mit einer 1%igen p-Phenylendiamin-Lösung gebracht. Der eine Kolben erhielt einen Zusatz von 1 ml einer 0,5%igen H_2O_2-Lösung, der andere Kolben blieb als Kontrolle peroxydfrei.

Ergebnis: Nach einer halben Stunde war die Lösung mit H_2O_2-Zusatz sehr stark oxydiert, die Vergleichslösung dagegen noch farblos. Es muß also in der Wirtspflanze Peroxydase vorhanden sein.

b) Polyphenoloxydase-Wirkung als Wundreaktion bei Castanea sativa

19. Versuch: Um festzustellen, ob durch eine Verwundung der Wirtsgewebe Enzyme frei werden, wurde folgender Versuch angesetzt: Ein Zweig einer *Castanea sativa* wurde in noch frischem Zustande in 0,5 cm lange Fragmente zerschnitten; die eine Hälfte dieser Teile kam sofort in eine 80%ige Äthanol-Lösung, die andere Hälfte wurde in zerschnittenem Zustande in luftfeuchter Atmosphäre während drei Tagen belassen und erst dann in die Alkohollösung gebracht. Bei der einen Hälfte dieser Fragmente wird die Enzymwirkung also augenblicklich nach der Verwundung durch den Alkohol blockiert, bei der anderen Hälfte können die Fermente noch während drei Tagen nach der Verwundung wirken. Beide Versuchsreihen werden anschließend während drei Tagen im Soxhlet extrahiert, der Extrakt im Vakuum eingedickt. Dieser wird sodann je mit äquivalenter Menge HOH dest. gelöst. Im Chromatogramm wird anschließend verglichen (eindimensionales Chromatogramm).

Ergebnis: Abb. 8 zeigt, daß durch die Verwundung Polyphenoloxydase frei wird.

20. Versuch: Die gleichen Tanninlösungen von Versuch Nr. 19 wurden mit der zweidimensionalen Papierchromatographie (wie Versuch Nr. 2) geprüft.

Ergebnis: Abb. 9 zeigt die Chromatogramme von Kastanien-Tannin von (I) und nach der Verwundung der Pflanzen (II). Auch diese Darstellung zeigt, daß durch die Verwundung Polyphenoloxydasen frei werden.

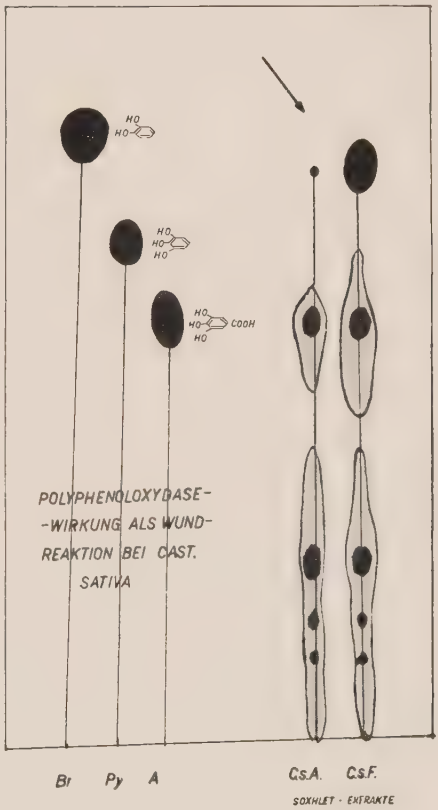

Abb. 8. Polyphenoloxydase-Wirkung als Wundreaktion bei *Castanea sativa*. CsF = Zweigstücke von *Castanea sativa* mit blockierten Fermenten (fixiert). CsA = Zweigstücke mit nicht blockierten Fermenten. Papierchromatogramm auf Whatman Nr. 1. Lösungsmittel = n-Butanol : Eisessig : HOH = 4 : 1 : 5. Reagenz = ammoniakalische Silbernitratlösung. Chromatogrammkopie = 1/3 nat. Größe

c) Polyphenoloxydase-Wirkung in gesundem und kranken Rindengewebe

21. Versuch: Rindenstücke von der Läsionsstelle einer *endothia*-kranken Castanea sativa wurden in je gleicher Menge in Erlenmeyerkolben mit einer 1%igen Pyrogallollösung verteilt, dann drei Tage bei 37° C inkubiert. Nach dieser Zeit wurde im Chromatogramm geprüft.

Ergebnis: Das Chromatogramm zeigt eine deutliche Abnahme der Pyrogallollösung durch die Einwirkung sowohl kranker als auch gesunder Rindenstücke.

An Hand dieses Versuches kann man nicht abgrenzen: was sind erregereigene und was sind wirtseigene Polyphenoloxydasen? Dies kann man besser an Hand des Versuchsergebnisses von Versuch Nr. 12 in Abb. 9 sehen. Durch die *Endothia*-Fermente sind nicht nur Gerbstoffe sondern auch die Phenole abgebaut worden.

VIII. Andere am Abbau von Tanninen und Phenolen beteiligte Enzyme

22. Versuch: Inaktiviert man die Esterase im *Endothia parasitica*-Myzel (EPM-Präparat) (siehe Versuch Nr. 9), so wird dadurch die Laccase-Wirkung nicht beeinträchtigt. Läßt man ein solches Laccase-Präparat auf ein Substrat einwirken (wie in Versuch 8), so kann man die Polyphenoloxydase-wirkung unter Ausschluß der Esterase verfolgen. Als Substrat wurde in diesem Versuch Gallussäure-n-Propylester (= P) verwendet, um festzustellen, ob dieses (und dementsprechend wahrscheinlich auch Tannine) unter Umgehung der Esterase abgebaut werden kann. — Die Fermentenwirkung erfolgte bei 37° C. Nach 2, 14, 24, 64 und 86 Stunden wurde im Chromatogramm kontrolliert.

Ergebnis: Es zeigte sich, daß der Gallussäureester in drei Tagen vollständig abgebaut wird. Entsprechend dem fermentativen Abbaues konnten im Laufe der Einwirkung im Chromatogramm festgestellt werden, Der Rf-Wert und ihre Abbaubarkeit durch die Laccase nach handelt es sich wahrscheinlich um Gallussäure und zwei mehr zu Ende fortgeschrittene Phenole (Pyrogallol und Brenzkatechin oder Hydrochinon?). Da diese Zwischenprodukte dauernd durch die Polyphenoloxydase abgebaut werden, sind sie im Chromatogramm immer nur in geringen Mengen nachzuweisen. Dieses stufenweise Abbauen dauert an, bis schließlich Substrat aufgebraucht ist.

Als vorläufige Erklärung dieses Ergebnisses möchte folgende Hypothese dienen: Es sind Hinweise aus anderen Versuchen (Versuch Nr. 8) vorhanden, daß die Esterase durch die Alkalibehandlung (siehe Versuch Nr. 9) nicht zerstört, sondern nur inaktiviert wird. Es wurde nämlich festgestellt, daß solche Esterase durch Ca wieder reaktiviert werden kann (nicht inaktivierte Esterase erhält hingegen durch Ca-Zusatz keine zusätzliche Aktivität). Eine solche latente Esterase ist immer noch, wenn auch sehr schwach, aktiv und vermag stark verdünnt die Esterbrücke zu spalten. Die entstandene Gallus-

säure wird in der Folge durch ein anderes, nicht bekanntes Fermentsystem weiter abgebaut (dabei ist möglicherweise eine Decarboxylase mit beteiligt). Dabei entstehen dann die Zwischenprodukte: die oben erwähnten Phenole. Diese werden dann dauernd durch die Polyphenoloxydase weiter abgebaut.

Das Ergebnis dieses Versuches zeigt uns, daß neben der Esterase und der Laccase noch weitere Enzyme am Abbau des ganzen Tanninkomplexes beteiligt sind.

IX. Fermentativer Abbau von Anthocyanen

23. Versuch: Nach verschiedenen Autoren (Cook und Wilson, 1916; Cook und Taubenhaus, 1911, 1912) wird die Toxizität des Kastanientannins durch Rindenfarbstoffe bedeutend verstärkt, doch ist die Bedeutung von Anthocyanen und Flavonen hier bis heute noch nicht geklärt. Wie orientierende Versuche zeigen, scheint es, daß Anthocyane (Anthocyan von *Beta vulgaris* L.) durch Fermente von *Endothia parasitica* abgebaut werden können. Dieser Vorgang kann auch papierchromatographisch (in Phosphatpuffer-Eisen-Lösung) verfolgt werden. Da es sich nur um vorbereitende Versuche handelt, sei hier jedoch nicht weiter darauf eingegangen. Die Frage ist hier noch nicht geklärt, ob der fermentative Abbau solcher Farbstoffe für Pilze toxische Substanzen liefert oder ob diese auch wieder zerstört werden.

„Fast alle Substanzen, welche in den Organismus aufgenommen werden (oder welche ganz allgemein in den Wirkungsbereich eines solchen Organismus gelangen), unterliegen dort einer Umwandlung durch Ketten hintereinander geschalteter Reaktionen; ihr Schicksal wird demnach durch das Zusammenwirken mehrerer Enzyme verschiedener Spezifität bestimmt“ (Hoffmann-Ostenhof, 1954). Solche miteinander oder nacheinander wirkende Enzyme bilden eine Fermentkette (oder auch multiples Enzymsystem genannt). In der Enzymologie sind schon einige solche ziemlich gut bekannt. Komplizierter wird der Fall, wenn zwei multiple Enzymsysteme ineinandergreifen, wie es z. B. im Erreger-Wirt-Verhältnis der Fall sein kann. In den vorliegenden Untersuchungen haben wir das Erreger-Fermentsystem, welches sich dem wirtseigenen System beigesellt, nur soweit verfolgt, als dies unmittelbar in den Rahmen der Arbeit gehört.

Soweit irgend möglich, versuchten wir das Wirken dieser Enzymketten in vivo zu erfassen. Leider ist es nicht möglich, den Ablauf selbst zu verfolgen; es können ja nur einige Teilvorgänge und Situationen erkannt werden. Abb. 9 zeigt uns an Hand von vier Chromatogrammen den Abbau von Tanninen und Phenolen durch wirtseigene und durch erregereigene Enzyme. Die Ergebnisse der in dieser Arbeit publizierten Versuche geben einen ersten und vorläufigen Überblick über diesen ganzen Fragenkomplex. Über weitere Versuche wird in einer späteren Arbeit berichtet.

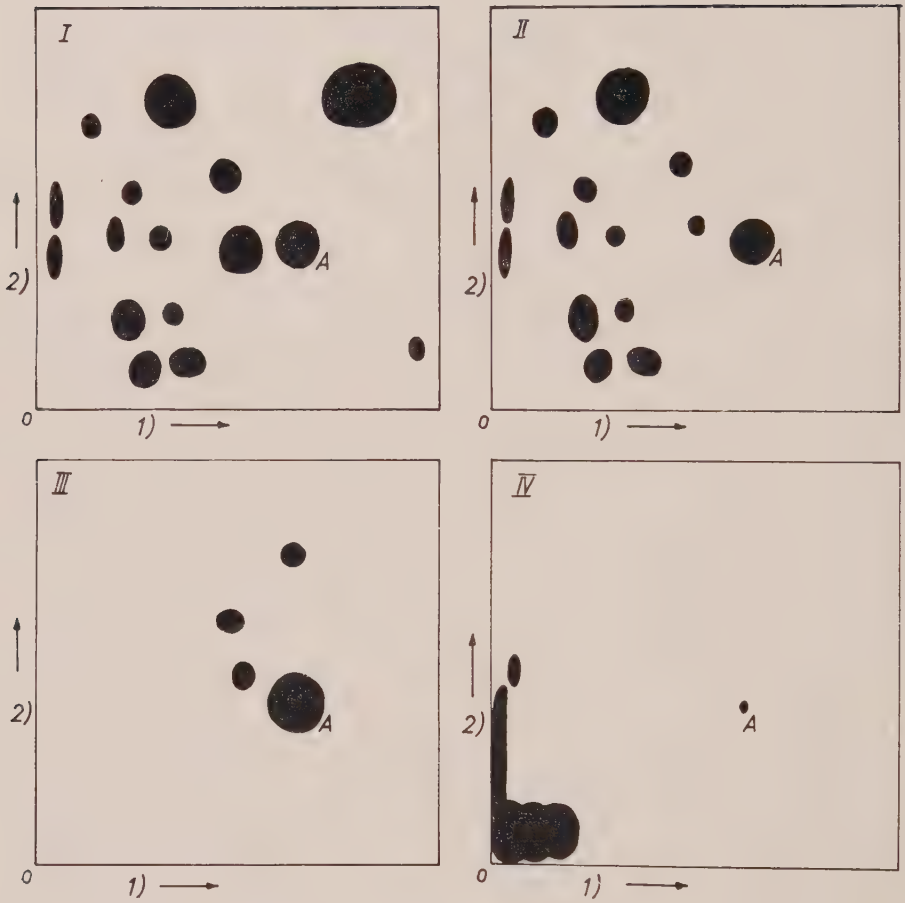

Abb. 9. Zweidimensionale Papierchromatographie von *Castanea sativa*-Tanninen. 0 = Startpunkt. 1) = 1. Laufrichtung mit n-Butanol : Eisessig : HOH = 4 : 1 : 5. 2) = 2. Laufrichtung mit Phosphatpuffer-Eisen-Lösung. Papier: Wathman Nr. 1. Reagenz: 1. ammoniakalische Silbernitratlösung; 2. Diazotierte Sulfanilsäure.

I. = Chromatogramm von Kastaniengerbstoffen vor der Verwundung der Pflanzen (Extrakt identisch mit CsF-Tannin aus Versuch 19 und 20, Abb. 8).

II. = Chromatogramm von Kastaniengerbstoffen nach der Verwundung der Pflanzen (Extrakt identisch mit CsA-Tannin aus Versuch 19 und 20, Abb. 8).

III. = Chromatogramm von Kastaniengerbstoffen nach dem enzymatischen Abbau durch *Endothia parasitica* in vitro (Extrakt von Versuch 2).

IV. = Chromatogramm von Kastaniengerbstoffen nach dem enzymatischen Abbau durch *Endothia parasitica* in vivo (Tanninextrakt aus lädierten Geweben; Versuch 10).

Chromatogramme auf 1/5 verkl.

Zusammenfassung

1. Es wird eine Methode der Absorbtionschromatographie von Phenolen mit Papier beschrieben, die es gestattet, die enzymatische Wirkung von tannin- und phenolspaltenden Fermenten zu erfassen. Außer dieser Methode wird die übliche Papierchromatographie verwendet.

2. Es wird ein tannin- und gallussäureester-spaltendes Enzym von *Endothia parasitica* (Murr.) And. nachgewiesen und als Esterase identifiziert.

3. Esterase kann sowohl in vitro als auch in vivo nachgewiesen werden.

4. Versuche zeigen, daß die *Endothia*-Esterase ein adaptives Enzym ist.

5. Der Nachweis von erregereigener Peroxydase und einer Polyphenoloxydase des Laccase-Typus in *Endothia*-Kulturen wird erbracht.

6. Der Nachweis einer wirtseigenen Peroxydase und einer Polyphenoloxydase in *Castanea sativa* wird erbracht.

7. Versuche zeigen, daß die *Endothia*-Laccase ein konstitutives Enzym ist.

8. Die Polyphenoloxydase-Wirkung in gesunden und kranken Wirtsgeweben wird gezeigt.

9. Die Polyphenoloxydase-Wirkung als Wundreaktion bei *Castanea sativa* wird gezeigt.

10. Die Abhängigkeit der Ferment-Wirkung von der Einwirkungsdauer und Temperatur wird bei der Esterase und bei der Laccase gezeigt.

11. Es wird auf die aktivierende und hemmende Wirkung einiger Chemikalien auf die beschriebenen Fermente hingewiesen.

12. Die Möglichkeit der Wirkung weiterer am Abbau von Tanninen und Phenolen beteiligter Enzyme wird angedeutet.

13. Auf die Möglichkeit des fermentativen Abbaues von Anthocyanen wird hingewiesen.

14. Die Wechselwirkung dieser verschiedenen Enzyme wird angedeutet.

15. Mit der zweidimensionalen Papierchromatographie kann ein Rohextrakt von Kastaniengerbstoffen in 14 bis 16 Komponenten zerlegt werden. Mit dieser Methode kann man den fermentativen Abbau durch *Endothia parasitica* detaillierter verfolgen als mit der eindimensionalen Methode. Der Abbau in vivo ist ein vollständiger, d. h. die verschiedenen Gerbstoffkomponenten und die Abbauprodukte sind im Chromatogramm nicht mehr festzustellen. Parallel zu dieser enzymatischen Zersetzung nimmt auch die Toxizität gegenüber Pilzen in bedeutendem Maße ab. Diese Feststellung gilt vor allem für *Castanea sativa*. Über die Verhältnisse bei *Castanea mollissima* wird in einer späteren Publikation berichtet.

Literaturverzeichnis

Bazzigher, G., 1953: Beitrag zur Kenntnis der *Endothia parasitica* (Murr.) And., dem Erreger des Kastaniensterbens. Phytopath. Z. **21**, 105—132.

Cook, M. T., Bassett, H. P., Thompson, F., and Taubenhaus, J. J., 1911: Protective enzymes. Science n. s. **33**, 624—629.

— — and Taubenhaus, J. J., 1911: The relation of parasitic fungi to the contents of the cells of the host plants (I. The toxicity of tannin). Del. Agr. Exp. Sta. Bul. **91**, 77 S.

— —, — —, 1912: The relation of parasitic fungi to the contents of the cells of the host plants (II. The toxicity of vegetable acids and the oxidizing enzyme). Del. Agr. Exp. Sta. Bul. **97**, 53 S.

— — and Wilson, G. W., 1916: The influence of the tannin content of the host plant on *Endothia parasitica* and related species. New Jersey Agr. Exp. Sta. Bul. **291**, 47 S.

Cramer, F., 1952: Papierchromatographie. Verlag Chemie, GMBH., Weinheim. 81 S.

Foster, J. W., 1949: Chemical activities of fungi. Academic Press Inc., Publishers, New York, 648 S.

Gäumann, E., 1951: Pflanzliche Infektionslehre. 2. Aufl. Verlag Birkhäuser, Basel, 681 S.

Glick, D., 1954: Methods of biochemical analysis. Vol. I. Interscience Publishers, New York, London, 521 S.

Grosser, A. und Friedrich, W., 1947: Eine Testmethode zur Bestimmung von Pilzhemmstoffen. Z. f. Natur. **2**, 425—427.

Hoffmann-Ostenhoff, O., 1954: Enzymologie. Springer-Verlag, Wien, 772 S.

Klein, G., 1932: Handbuch der Pflanzenanalyse. Verlag J. Springer, Wien.

Lederer, E. and M., 1954: Chromatography. Elsevier Publ. Co., New York, 460 S.

Newton, R., and Anderson, J. A., 1929: Canad. J. Res. **1**, 86—99.

Niendtaedt, H., 1953: Tannin as a factor in the resistance of chestnut, *Castanea* spp., to the chestnut blight fungus, *Endothia parasitica*. Phytopathology **43**, 1, 32—38.

Walker, J. C., 1924: On the nature of disease resistance in plants. Trans. Wisconsin Acad. of Sciences, Arts, and Letters. Vol. XXI, 226—247.

Sopronhorpácsi Növénynemesitési és Növénytermesztési Kutató Intézet
Institut für Pflanzenzüchtung und Pflanzenbau in Sopronhorpács Ungarn
Direktor: Dr. K. Sedlmayr

Über die Ursachen der unterschiedlichen Resistenz der Zuckerrübensorten gegen *Cercospora beticola* Sacc.

Von

A. Kovács

Mit 5 Abbildungen

Einleitung

Gäumann (7) schildert den Infektionsvorgang bei *Botrytis cinerea* Pers. auf Blättern von *Vicia faba* L. nach der Arbeit von Brown (2) wie folgt: „Das Laubblatt stimuliert durch seine eigenen Ausscheidungen die Keimung des ihm kongenialen parasitischen Pilzes, der auf seiner Oberfläche liegt und es gleich angreifen wird."

Suchorukow (13) weist auf Grund eigener Versuche darauf hin, daß betreffs der Resistenz der Wirtspflanze die Entwicklung der Parasiten auf derselben vor ihrem Eindringen von Wichtigkeit ist. Im Sinne seiner Versuche haben wir auf diese Phase ebenfalls besonderes Gewicht gelegt, als wir die Ursachen der unterschiedlichen *Cercospora*-Resistenz der einzelnen Zuckerrübensorten untersuchten.

Wir haben unsere Untersuchungen auf Grund der Arbeiten über die kutikuläre Exkretion von Saussure (12), Arens (1), Suchorukow (13), Eperjessy (4, 5) und anderen Forschern mit folgender Arbeitshypothese begonnen: In den an den Blättern der verschiedenen Zuckerrübensorten anhaftenden Tau- bzw. Regentropfen können sich infolge der sogenannten kutikulären Exkretion (Arens, 1) verschiedene Stoffe befinden. Diese Stoffe können die Keimung der auf die Blätter gelangenden Konidien oder das Wachstum der Keimschläuche beeinflussen. Die Versuche von Darpoux, Lebrun und Arnoux (3) unterstützen diese Hypothese, wenngleich sie keine ähnlichen Schlüsse gezogen haben. Sie haben den Verlauf der Infektion bei der Zuckerrübe wie folgt untersucht: Sie setzten auf jedes Blatt je Flächeneinheit die gleiche Zahl *Cercospora*-Konidien. Nach kurzer Keimdauer haben

sie die Epidermis abgezogen und mikroskopisch untersucht. Sie stellten fest, daß bei den anfälligen Sorten binnen kürzerer Frist mehr Pilzhyphen durch die Stomata gelangen. Da sie diese Versuche nur mit geringem Material durchgeführt hatten, haben sie nur vorsichtig angedeutet, daß zwischen der Zahl der Stomata und der Resistenz vielleicht irgendeine Korrelation besteht. Wenn auch unsere Untersuchungen diese Schlußfolgerung nicht bestätigten, so haben ihre Mitteilungen durch Anregung unserer Forschungsarbeit doch wesentlich zum Erfolg beigetragen.

Experimenteller Teil

Wir wollten klären, was mit den *Cercospora*-Konidien geschieht, wenn sie auf die Blattoberfläche von anfälligen oder resistenten Sorten gelangen.

Nach vielen ergebnislosen Untersuchungen haben wir unsere ersten erfolgreichen Versuche im Mai—Juni 1954 durchgeführt. Wir entnahmen im Freiland Blätter von verschiedenen, im April gesäten Zuckerrübensorten. Diese wurden mit einer Sporensuspension bespritzt und 24 Stunden bei Zimmertemperatur in der Feuchtkammer gelassen. Nach Ablauf dieser Zeit wurden die Blätter mit Formalin bespritzt, um die weitere Keimung zu verhindern. Von den so behandelten Blättern haben wir die Sporen mit wenig Wasser abgewaschen, dieses Abwaschwasser auf den Objektträger getropft und den Prozentsatz der gekeimten Konidien festgestellt. Bei jeder Untersuchung nahmen wir im allgemeinen von fünf Pflanzen jeder Sorte je ein Blatt, das getrennt untersucht wurde. Die so erhaltenen Ergebnisse enthält die Tabelle 1.

Wir haben von der Blattoberfläche der untersuchten Blätter die Epidermis abgezogen; an drei Stellen in je einem Blickfeld (Φ = 0,54 mm) zählten wir die Stomata. Die letzte Spalte der Tabelle 1 enthält das Ergebnis der Zählung von je fünf Blättern in je drei Blickfeldern, was ungefähr 600 bis 700 Stomata entspricht.

Nachdem in Abhängigkeit von den Versuchsbedingungen (Dauer, Temperatur der Keimung, Art des Abwaschens, usw.) die Zahl der gekeimten Konidien sich während der Untersuchung ebenfalls änderte, haben wir zwecks leichterer Vergleichsmöglichkeit die Daten der drei Versuche auf einen gemeinsamen Nenner gebracht, bezogen auf den Versuchsdurchschnitt (vorletzte Spalte der Tabelle 1).

Diese Zahlen zeigen deutlich, daß die Zahl der keimenden Sporen auf den Blättern der Sorte „US 215 × 216“, der „Kleinwanzlebener CR“ und der „BETA K-91“ (resistente Sorten) kleiner, auf den Blättern der Sorte „PZHR 4“ größer sind als der Versuchsdurchschnitt. Es ist überraschend und — wie es sich später bestätigte — nur mit der nicht entsprechenden Versuchsmethodik erklärlich, daß die Sorten „BETA 242/53“, „Kleinwanzlebener E“ und „Dobrowitz N“ im Durchschnitt der drei Untersuchungen in der gleichen Gruppe erscheinen. Aus den Ergebnissen der Feldversuche ist bekannt (siehe Tabelle 3), daß die Sorte „BETA 242/53“ ziemlich resistent, die Sorte „Dobrowitz N“ anfällig und die Sorte „Kleinwanzlebener E“ sehr anfällig ist.

Tabelle 1

Keimung der *Cercospora*-Konidien auf den Blättern von verschiedenen Zuckerrübensorten

Sorte	Gesamtzahl der Konidien	Zahl der gekeimten Konidien	Gekeimte Konidien in %	Im % des Versuchsdurchschnittes	Zahl der Spaltöffnungen pro mm²
1. US 215 × 216	105	23	22,2	78,5	226
	69	17	26,5	64,2	148
	158	5	3,6	47,4	231
Durchschnitt				**63,4**	**202**
2. Kleinwanzlebener CR	130	31	23,8	84,1	204
	73	4	5,5	13,3	187
	130	8	6,6	78,9	208
Durchschnitt				**58,8**	**200**
3. BETA K-91	106	26	24,1	85,3	208
	—	—	—	—	200
	181	10	5,6	73,7	222
Durchschnitt				**79,5**	**203**
4. BETA 242/53	107	27	26,–	91,8	200
	64	33	51,6	125,8	170
	141	15	10,5	138,2	196
Durchschnitt				**118,3**	**189**
5. Kleinwanzlebener E	126	31	25,1	88,7	187
	—	—	—	—	170
	102	8	8,–	105,2	226
Durchschnitt				**97,–**	**194**
6. Dobrowitz N	118	46	38,2	135,1	113
	96	24	36,3	88,1	208
	117	12	9,8	129,–	182
Durchschnitt				**117,4**	**201**
7. PZHR 4	105	42	40,–	141,4	187
	109	94	86,7	209,5	161
	172	15	9,2	121,1	222
Durchschnitt				**157,3**	**190**

Kleinste signifikante Differenz P = 5 % (52,5),
P = 1 % (73,7).

Die Tabelle 1 zeigt also, daß die Ergebnisse der Keimung im Laboratorium — zwar mit großer Streuung — mit den praktischen Feldbeobachtungen ziemlich übereinstimmen. Es war aber nicht möglich, eine Korrelation zwischen der Zahl der Stomata pro mm² und der Resistenz festzustellen. Die Anzahl der Stomata variiert stark. Außer den individuellen Unterschieden kam wahrscheinlich noch der Umstand dazu, daß die untersuchten Blätter nicht immer gleichaltrig waren. Die mit drei Sorten („US 215 × 216", „BETA K-91" und „PZHR 4") durchgeführten Versuche bewiesen deutlich, daß die Zahl der Spaltöffnungen pro Flächeneinheit auf den inneren, kleineren, jungen Blättern größer ist als auf den voll entwickelten. Danach ist es wahrscheinlich, daß keine Korrelation zwischen Stomatazahl und Resistenz besteht, da in dieser Hinsicht der Unterschied zwischen den verschiedenen Sorten bedeutend kleiner ist als bei der gleichen Pflanze zwischen den verschiedenen Blattgradienten.

Trotz der erzielten Ergebnisse hatte die Methode der Bespritzung mit Sporensuspension mit nachfolgender Abwaschung einen wesentlichen Nachteil: von den Blättern konnte nur ein kleiner Prozentsatz der Konidien abgewaschen werden.

Es ist oft vorgekommen, daß nach dem Abwaschen in dem untersuchten Abwaschwasser die Zahl der Sporen gering war. Dieser Umstand ist nur mit der Unvollkommenheit des Abwaschens zu erklären.

Wahrscheinlich war die gleiche Ursache dafür verantwortlich, daß bei den einzelnen Untersuchungen die Streuung der Keimprozente auch innerhalb der Sorten groß war. Im Falle eines schwachen Abwaschens gelangten nur die nicht gekeimten Sporen zur Untersuchung, während ein kräftigeres Abwaschen mehr gekeimte Sporen von der Blattoberfläche entfernen konnte. Wir arbeiteten daher ein neues Verfahren aus, das mit weniger Schwierigkeiten sichere Ergebnisse lieferte.

Die auf die Blätter gelangten Sporen keimen unter natürlichen Verhältnissen im Tau oder in den auf den Blättern zurückbleibenden Regentropfen. Wir haben daher ebenfalls Tau- bzw. Regentropfen von den Blättern gesammelt und ließen die *Cercospora*-Konidien in diesen keimen.

Wir sammelten den Tau auch so, daß wir ihn mit Watte aufsogen und in die Reagensgläser auspreßten, oder die Blätter vorsichtig abtrennten und das Wasser von ihrer Oberfläche im Laboratorium mit Hilfe einer Vakuumpumpe wie mit einem Staubsauger absogen. Wenn die Taubildung reichlich war, so wurde der Tau von den Blättern unmittelbar mit dem Reagensglas gesammelt.

Bei der Auswahl der Versuchspflanzen ist es wichtig, den zu untersuchenden Tau nur von gesunden, von der virösen Gelbsucht nicht befallenen Pflanzen zu sammeln. Die viruskranken Pflanzen sind nämlich für die *Cercospora*-Infektion besonders anfällig. Speziell die resistenten Sorten büßen von ihrer Widerstandsfähigkeit infolge einer Gelbsuchtinfektion viel ein (8). Das abgesogene Wasser wurde durch Zentrifugieren (5000 Umdrehungen/min — 10 bis 15 Minuten) von den Verunreinigungen befreit. In die so erhaltene reine Flüssigkeit legten wir dann ein Stückchen eines *Cercospora*-infizierten Blattes. Wir sammelten die von *Cercospora* befallenen Blätter beim Beginn einer Versuchsserie vom Felde und hielten sie 24 Stunden in einer Feuchtkammer, um reichliche Sporenbildung zu ermöglichen. Die Blätter wurden dann im Kühlschrank bei 4 °C aufbewahrt, und später entnahmen wir von diesen die Sporen. Auf diese Art hatten wir bei mehreren Versuchsserien immer Konidien gleicher Herkunft zur Verfügung.

Von dem zentrifugierten und nachher mit *Cercospora* infizierten Tau haben wir Proben entnommen. Die Proben wurden mikroskopisch untersucht, ob sie eine entsprechende Menge von Konidien enthalten. Waren diese nur in geringer Zahl vorhanden, setzten wir noch ein Stückchen von dem *Cercospora*-infizierten Blatt zu; waren sie zu reichlich, so haben wir sie mit demselben reinen Saft verdünnt. Die Einstellung der Konidienzahl erfolgte selbstverständlich nur im Rahmen bestimmter Grenzen, sonst hätten wir

infolge der langwierigen Arbeit die Beobachtung der Keimung bei sämtlichen Proben nicht gleichzeitig bewerkstelligen können.

Von dem entsprechend behandelten Tau haben wir je einen Tropfen auf den Objektträger übertragen und diesen in eine Feuchtkammer gebracht. Den verschiedenen Umständen entsprechend haben wir nach 2½ bis 6 Stunden je ein Muster mikroskopisch bei einer 250fachen Vergrößerung untersucht. Bei entsprechender Keimung, d. h. wenn ein Teil der Konidien bereits zu keimen begann, haben wir auf die Objektträger Formalin getropft und hierdurch die weitere Keimung unterbunden. Anschließend erfolgte die mikroskopische Prüfung, es wurden pro Objektträger je 50 Konidien untersucht. In den verschiedenen, zufällig ausgewählten Teilen eines Objektträgers (d. h. pro Probe) wurde in je einem Blickfelde die Zahl der gekeimten und der nicht gekeimten Konidien festgestellt. Um die Objektivität der Untersuchungen zu sichern, haben wir die Objektträger für die mikroskopische Prüfung chiffriert, so daß der Untersucher nicht wußte, ob der Tau auf dem Objektträger von einer resistenten oder einer anfälligen Sorte entnommen worden war.

Tabelle 2

Keimung der *Cercospora*-Konidien im Tau und im aufgesprühten und wieder abgesogenen Wasser

Sorte	Gekeimte Konidien je Pflanze in %	
	im Tau	im abgesogenen destillierten Wasser
	Mittel ± m	Mittel ± m
1. BETA 436	24,8 ± 4,4	18,4 ± 4,8
2. BETA 242/53	26,4 ± 2,8	12,8 ± 1,5
3. BETA E. III.	27,– ± 4,–	12,8 ± 2,1
4. BETA 242/53/27 4×	28,– ± 2,9	13,2 ± 0,6
5. Kleinwanzlebener E.	29,– ± 5,1	14,4 ± 0,8
6. Buszczynski CLR	29,– ± 1,1	17,2 ± 3,4
7. BETA 1. 3×	19,– ± 5,1	18,– ± 3,–
8. BETA 242/C	34,– ± 2,8	10,8 ± 0,6
9. BETA 2. 3×	34,– ± 2,9	14,– ± 1,–
10. BETA K-91	39,2 ± 7,4	12,4 ± 2,7
11. Dobrowitz N	59,6 ± 12,6	36,– ± 3,–
12. Ramonyer 1537	61,6 ± 7,–	38,8 ± 2,1
Kleinste signifikante Differenz P = 5 %	13,3	6,6
P = 1 %	17,9	8,9
P = 0,1 %	23,4	11,6

Keimung bei Zimmertemperatur, am 10. Oktober 1954, im Lichte.
Untersucht wurden je fünf Pflanzen je Sorte und 50 Konidien je Pflanze.

Gute Resultate wurden auch dann erzielt, wenn bei Taumangel aqua dest. auf die abgeschnittenen Blätter gespritzt und nach einigen Stunden abgesogen wurde.

Die Tabelle 2 zeigt die Ergebnisse der mit aufgesprühtem und wieder abgesogenem destillierten Wasser bzw. mit Tau durchgeführten Keimungsversuche. Die Zuverlässigkeit der Ergebnisse wurde mit Hilfe der Varianzanalyse kontrolliert.

Die Untersuchung des *Cercospora*-Befalls bei den in der Tabelle aufgeführten Sorten bzw. Stämmen wurde in einem zufällig verteilten Versuch in vier Wiederholungen durchgeführt. Die Bonitierung erfolgte laut folgender Skala:

1 = Ein bis zwei Flecke auf den älteren Blättern, die jungen Blätter ohne Flecke.
2 = Acht bis zehn Flecke auf den älteren, ein bis zwei auf den jüngeren Blättern.
3 = Viele Flecke auf den älteren Blättern, die noch nicht zusammenfließen.
4 = Die älteren Blätter dicht mit Flecken bedeckt, zusammenhängende Vertrocknungen.
5 = Die älteren Blätter vertrocknet, nur die Herzblätter sind noch grün.

In allen Parzellen wurden je 50 Rüben einzeln bonitiert, von den so erhaltenen Werten der Durchschnitt berechnet und mit der Differenzmethode (10) aufgearbeitet. Die Bonitierung wurde am 16. 9. durchgeführt.

Tabelle 3

Bonitierung des *Cercospora*-Befalls im Freiland

Sorte	Mittel ± m	t	P %
1. Buszczynski CLR	1,22 ± 0,03	9,95	0,22
2. BETA 1. 3×	1,42 ± 0,13	5,67	1,06
3. BETA 242/53/27. 4× ..	1,47 ± 0,13	3,96	2,9
4. BETA E. III.	1,52 ± 0,21	2,75	7,1
5. BETA 2. 3×	1,55 ± 0,11	4,08	2,6
6. BETA 436	1,60 ± 0,11	3,87	3,1
7. BETA K-91	1,62 ± 0,13	3,58	3,8
8. BETA 242/53	1,65 ± 0,04	2,82	6,7
9. BETA 242/C	1,85 ± 0,13	0,—	100,—
10. Ramonyer 1537	2,67 ± 0,03	9,67	0,24
11. Dobrowitz N	2,72 ± 0,19	7,89	4,43
12. Kleinwanzlebener E	3,22 ± 0,24	9,21	0,27

Wenn wir die Ergebnisse der im Laboratorium und im Freiland durchgeführten Versuche vergleichen (Tabelle 2 und 3), können wir feststellen, daß bei den 12 untersuchten Sorten die Bonitierungen von 11 ziemlich gut übereinstimmen. Die Sorten „Dobrowitz N“ und „Ramonyer 1537“ erwiesen sich in allen Fällen als anfällig. Die Sorte „Buszczynski CLR“ und die „BETA“-Sorten bzw. -Stämme waren resistent oder mäßig resistent. Nur bei der Sorte „Kleinwanzlebener E“ war der Unterschied bedeutend. Diese Sorte ist im Freiland eine der anfälligsten, bei den Untersuchungen im Laboratorium dagegen wies der von ihr gesammelte Tau eine deutliche keimungshemmende Wirkung auf. Im Laufe der weiteren Keimungsprüfungen brachte diese Sorte wechselnde Ergebnisse, aber gegen Herbst näherte sie sich — gemäß den praktischen Erfahrungen — immer mehr den anfälligen Sorten (Tabelle 4).

Tabelle 4

Keimung der *Cercospora*-Konidien im Tau

Sorte	Gekeimte Konidien je Pflanze in % am 30. 9. 1954 Mittel ± m	am 20. 10. 1954 Mittel ± m
1. Buszczynski CLR	13,2 ± 4,7	14,– ± 3,–
2. BETA K-91	17,2 ± 5,4	15,6 ± 3,1
3. Kleinwanzlebener E	25,6 ± 3,1	34,8 ± 5,2
4. Dobrowitz N	28,8 ± 5,9	36,8 ± 1,4
5. Ramonyer 1537	28,5 ± 4,2	38,8 ± 2,4
6. Kontrolle in destilliertem Wasser	38,– ± 4,5	9,2 ± 1,6
Kleinste signifikante Differenz P = 5 %	12,79	6,–
P = 1 %	17,39	8,15
P = 0,1 %	23,58	11,05

Keimung bei 25 ° C, 4½ Stunden. Untersucht wurden je fünf Pflanzen je Sorte und je 50 Konidien je Pflanze.

Die weiteren Untersuchungen wurden nur mit folgenden vier Sorten: „Buszczynski CLR", „BETA K-91" (resistent), „Dobrowitz N" und „Ramonyer 1537" (anfällig) durchgeführt.

Keimungsversuche wurden unter verschiedenen Versuchsbedingungen durchgeführt (Zimmertemperatur von 19 ° C beleuchtet und verdunkelt, bei 25 ° C verdunkelt). Wir wollten lediglich klären, ob derartige Differenzierungen den relativen Wert der Sorten beeinflussen.

Tabelle 5

Keimung der *Cercospora*-Konidien im Tau unter verschiedenen Verhältnissen

Sorte	Gekeimte Konidien je Pflanze in % im Licht 19 ° C	im Dunkeln 19 ° C	im Dunkeln 25 ° C	Sortenmittel
1. Buszczynski CLR	8,4 ± 2,4	2,8 ± 0,6	8,4 ± 0,4	6,5
2. BETA K-91	9,6 ± 3,1	4,– ± 0,5	12,8 ± 2,3	8,8
3. Ramonyer 1537	28,– ± 3,–	13,2 ± 2,1	33,– ± 2,2	24,7
4. Dobrowitz N	23,6 ± 2,3	14,4 ± 0,4	41,5 ± 1,3	26,5
5. Kontrolle in destilliertem Wasser	62	18	68	49,3
Kleinste signifikante Differenz P = 5 %	8,96	3,22	4,25	
P = 1 %	12,59	4,53	5,96	
P = 0,1 %	17,73	6,39	8,41	

Keimung bei 19 ° C, 3 Stunden; bei 25 ° C, 3¾ Stunden. Untersucht wurden je fünf Pflanzen je Sorte und je 50 Konidien je Pflanze.

Wie Tabelle 5 zeigt, erfolgte bei gleicher Temperatur die Keimung im Dunkeln langsamer als im Licht; bei Zimmertemperatur (19 ° C) langsamer als bei 25 ° C, doch beeinflussen diese Unterschiede die relativen Werte der

Sorten und ihr Verhältnis zueinander nicht wesentlich. Im Tau resistenter Sorten keimten weniger Konidien als in dem Tau anfälliger Sorten.

Dieses Ergebnis erscheint für den Züchter vorteilhaft, da die Sortendifferenzierung von den geprüften Faktoren in ihren Relationen nicht beeinflußt wird. Der Nachteil besteht darin, daß durch eine Änderung der Keimungsbedingungen die Unterschiede zwischen den einzelnen Sorten wahrscheinlich nicht sehr erhöht werden können. Wir haben mit dem Tau gleicher Herkunft noch einen Versuch angestellt, in welchem die Wachstumshemmung durch Längenmessung der Keimschläuche nach längerer Keimungsdauer beurteilt wurde. Die so erhaltenen Werte stimmen mit den Keimungsprozenten überein. Bei den resistenten Sorten ist die Zahl der ungekeimten Konidien größer, Zahl und Länge der Keimschläuche sind kleiner als bei den anfälligen Sorten. In diesem Versuch haben wir eine Serie bei 19 °C 6¼ Stunden beleuchtet, eine andere Serie 7¾ Stunden verdunkelt keimen lassen. Pro Pflanze wurde bei je 25 Konidien die Länge der Keimschläuche festgestellt (Tabelle 6).

Tabelle 6

Wachstum der Keimschläuche von *Cercospora*-Konidien in von verschiedenen Zuckerrüben-Sorten gesammeltem Tau

Sorte	Nichtgekeimte Konidien	Zahl der Keimschläuche	Gesamtlänge in μ	durchschnittliche Länge in μ
Im Licht, 19 ° C				
1. Buszczynski CLR	4,8	34,–	939,4	27,3 ± 1,8
2. BETA K-91	4,8	36,8	1095,–	29,8 ± 0,7
3. Ramonyer 1537	0,6	54,6	2126,8	38,9 ± 0,8
4. Dobrowitz N	2,–	48,–	2021,–	42,1 ± 6,–
Kleinste signifikante Differenz P = 5 %				7,67
P = 1 %				10,79
P = 0,1 %				15,19
Im Dunkeln, 25 ° C				
1. Buszczynski CLR	1,4	60,6	1969,–	32,5 ± 2,–
2. BETA K-91	0,8	57,8	2369,–	41,– ± 2,9
3. Ramonyer 1537	—	64,6	2890,2	44,9 ± 2,–
4. Dobrowitz N	0,6	64,–	2950,8	46,3 ± 2,9
Kleinste signifikante Differenz P = 5 %				5,32
P = 1 %				7,46
P = 0,1 %				10,54

Untersucht wurden je 25 Konidien je Pflanze, je fünf Pflanzen je Sorte.

Wir haben weiterhin untersucht, wie die Konidien in dem von verschiedenen Blattgradienten (außen, Mitte und innen) gesammelten Tau keimen. Die Klärung dieser Frage war wichtig, weil die Zuverlässigkeit der Ergebnisse leiden würde, wenn sich ein Unterschied zwischen den Blattgradienten zeigen

sollte. Würde diese Annahme zutreffen, so müßte mit dem Zusammenwirken der Faktoren „Sorte" und „Blattgradient" (mit dem Alter der Blätter) gerechnet werden, wie z. B. bei der Zahl der Spaltöffnungen pro Flächeneinheit. Es müßte dann darauf geachtet werden, daß bei der Entnahme der Blätter diese immer nur von den gleichen Blattgradienten genommen werden.

Den Tau haben wir so gesammelt, daß je vier Pflanzen eine Gruppe bildeten und der Tau getrennt von den äußeren, mittleren und inneren Blättern dieser vier Pflanzen gesammelt wurde.

Tabelle 7

Keimung der *Cercospora*-Konidien in dem von verschiedenen Blattgradienten gesammelten Tau

Sorte	Gekeimte Konidien in % im Tau, gesammelt von den inneren Blättern M ± m	mittleren Blättern M ± m	äußeren Blättern M ± m	Sortenmittel
1. Buszczynski CLR	15,6 ± 1,6	13,2 ± 1,7	14,– ± 1,8	14,3
2. BETA K-91	16,5 ± 1,1	17,6 ± 2,7	23,6 ± 3,7	19,2
3. Kleinwanzlebener E	35,6 ± 6,3	26,4 ± 4,3	32,– ± 5,5	31,3
4. Ramonyer 1537	34,8 ± 5,8	38,– ± 2,–	40,8 ± 5,1	37,8
5. Dobrowitz N	54,– ± 9,3	35,6 ± 3,7	38,8 ± 1,3	42,8
Mittel je Blattgradient	31,3	26,1	29,8	
6. Kontrolle in destilliertem Wasser	70,– ± 7,2			

Keimung bei 25° C, 4 Stunden. Untersucht wurden je fünf Pflanzengruppen je Blattgradient und je 50 Konidien je Pflanzengruppe.

Die Tabelle 7 bezeugt, daß der Blattgradient keinen Einfluß auf das Ergebnis hat. Der Unterschied zwischen den Sorten erscheint bei jedem Blattgradienten. Dasselbe wird auch durch den Versuch bestätigt, in welchem wir nicht die Zahl der ausgekeimten Konidien, sondern die Länge der Keimschläuche untersucht haben (Tabelle 8).

Tabelle 8

Keimung der *Cercospora*-Konidien in dem von verschiedenen Blattgradienten gesammelten Tau. Messung der Keimschläuche

Sorte	Zahl und Länge der Keimschläuche im Tau, gesammelt von den inneren Blättern: Zahl	Länge μ ± m	mittleren Blättern: Zahl	Länge μ ± m	äußeren Blättern: Zahl	Länge μ ± m
1. Buszczynski CLR	67,5	5651,5 ± 95,7	68,5	5110,2 ± 284,4	64,–	4768,7 ± 430,4
2. BETA K-91	69,2	5265,2 ± 289,1	69,5	5879,– ± 173,4	70,2	5056,8 ± 331,–
3. Ramonyer 1537	67,–	6275,5 ± 148,6	66,5	6801,5 ± 459,6	66,2	6936,– ± 800,4
4. Dobrowitz N	69,7	6559,5 ± 253,6	70,–	6380,– ± 378,3	71,–	7325,– ± 695,4

Keimung bei 19° C, 12 Stunden. Untersucht wurden je fünf Pflanzengruppen je Blattgradient und je 25 Konidien je Pflanzengruppe.

In drei Versuchsreihen sollten die keimungsregelnden Stoffe durch Einweichen der Blätter in destilliertem Wasser zur Lösung gebracht werden. Zu diesem Zwecke entnahmen wir drei Blätter gleicher Größe je Pflanze und weichten diese in je 100 ml destilliertem Wasser ein. Nach 18 Stunden wurden zu diesem Wasser *Cercospora*-Konidien zugegeben und in einem Thermostaten bei 25 ° C in einer Feuchtkammer zur Keimung angesetzt.

In den drei Versuchsreihen war die Streuung in einem Falle so groß, daß keine gesicherten Unterschiede festgestellt werden konnten. In den beiden anderen Fällen konnten wir eine signifikante Differenz im erwarteten Sinne feststellen (Tabelle 9).

Tabelle 9

Keimung der *Cercospora*-Konidien in wäßrigen Blattauszügen verschiedener Sorten

Sorte		Gekeimte Konidien je Pflanze in % am 6. 10.	am 21. 10.
		Mittel ± m	Mittel ± m
1. Buszczynski CLR		24,– ± 2,1	10,4 ± 4,9
2. BETA K-91		13,– ± 1,1	8,– ± 2,–
3. Ramonyer 1537		31,6 ± 1,7	23,6 ± 5,8
4. Dobrowitz N		30,8 ± 1,9	32,8 ± 1,9
5. Kontrolle in destilliertem Wasser		28,– ± 3,6	21,6 ± 6,2
Kleinste signifikante Differenz	P = 5 %	5,2	13,05
	P = 1 %	7,2	17,95
	P = 0,1 %	9,9	24,70

Keimung bei 25 ° C, 4½ Stunden. Untersucht wurden je fünf Pflanzen je Sorte und je 50 Konidien je Pflanze.

Weiterhin untersuchten wir die Keimung der Konidien bei verschiedener Tauverdünnung. Wir stellten Verdünnungsserien von dem am 18. 10. 54 gesammelten Tau her. In den so erhaltenen Verdünnungsreihen (unverdünnt, 1 : 2, 1 : 4, 1 : 8, 1 : 16, 1 : 32) ließen wir in der bereits angegebenen Weise *Cercospora*-Konidien keimen. Von den Sorten „Buszczynski CLR", „BETA K-91", „Dobrowitz N" und „Ramonyer 1537" wurde der von je fünf Pflanzen gesammelte Tau getrennt für jede Pflanze verdünnt. Dies machte die Untersuchung — einschließlich der Kontrollen — von 125 Proben, d. h. von 6250 Konidien notwendig. Eine größere Zahl konnten wir gleichzeitig nicht prüfen, deshalb waren weitere Verdünnungsstufen nicht möglich.

Zwei Tage später stellten wir von demselben Tau und destilliertem Wasser weitere Verdünnungsreihen (1 : 64, 1 : 128, 1 : 256, 1 : 512 und 1 : 1024) her, als Kontrolle diente destilliertes Wasser. Die Kontrolle diente als Bezugsgröße beider Teilversuche. Der zweite Versuch wurde dann abgebrochen, wenn die Zahl der gekeimten Konidien mit der der Kontrolle des ersten Teilversuches annähernd übereinstimmte (Keimungsprozente 46,5 bzw. 48,4 %). Auf diese Weise schließen sich die Versuchsergebnisse des zweiten Teilversuches dem vorangegangenen an und können miteinander in Beziehung gesetzt werden.

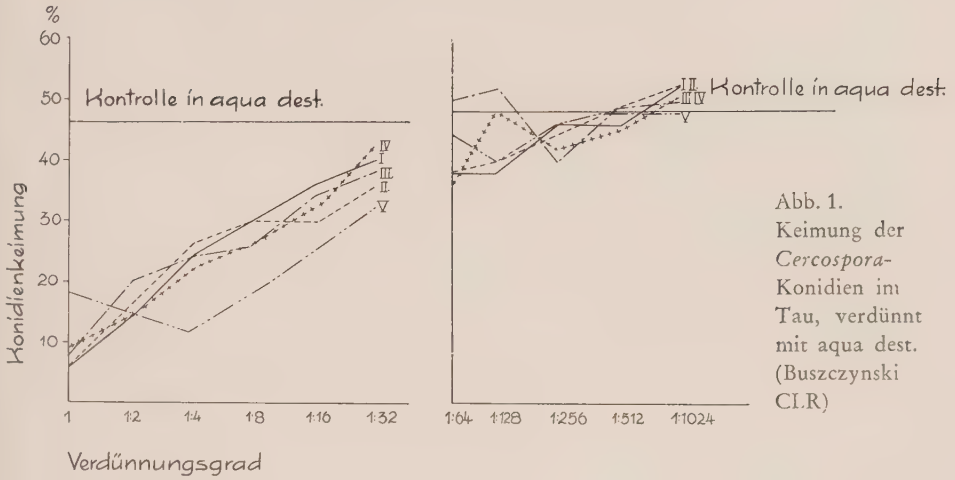

Abb. 1. Keimung der *Cercospora*-Konidien im Tau, verdünnt mit aqua dest. (Buszczynski CI.R)

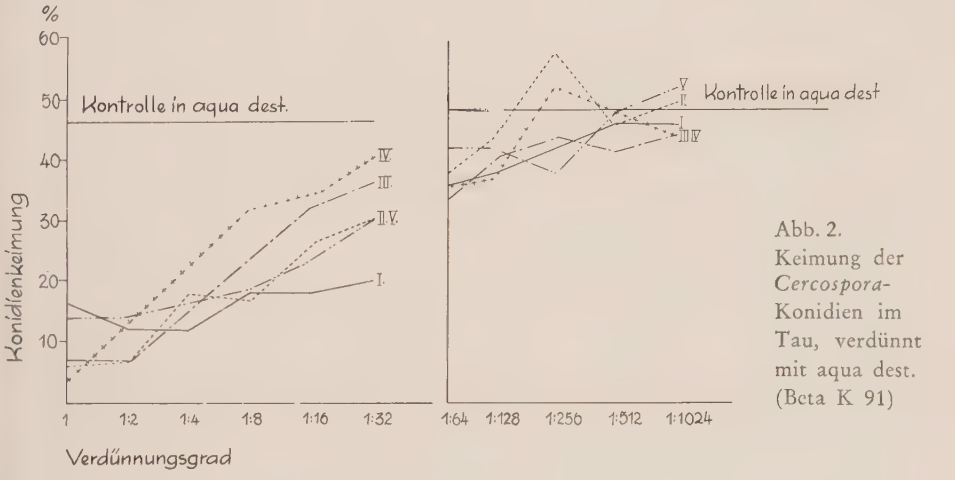

Abb. 2. Keimung der *Cercospora*-Konidien im Tau, verdünnt mit aqua dest. (Beta K 91)

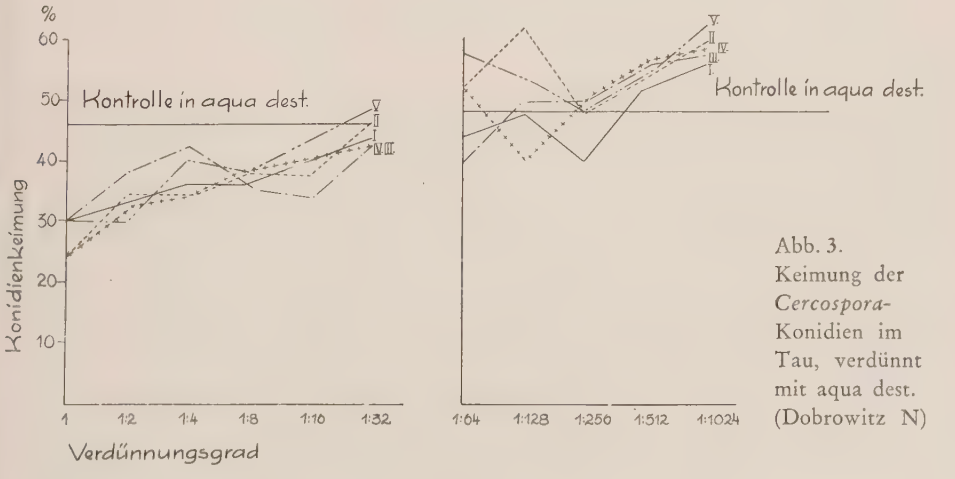

Abb. 3. Keimung der *Cercospora*-Konidien im Tau, verdünnt mit aqua dest. (Dobrowitz N)

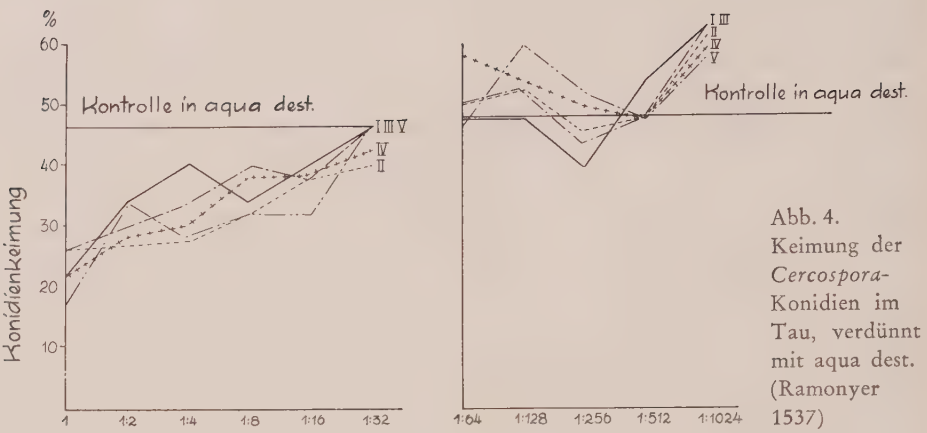

Abb. 4. Keimung der *Cercospora*-Konidien im Tau, verdünnt mit aqua dest. (Ramonyer 1537)

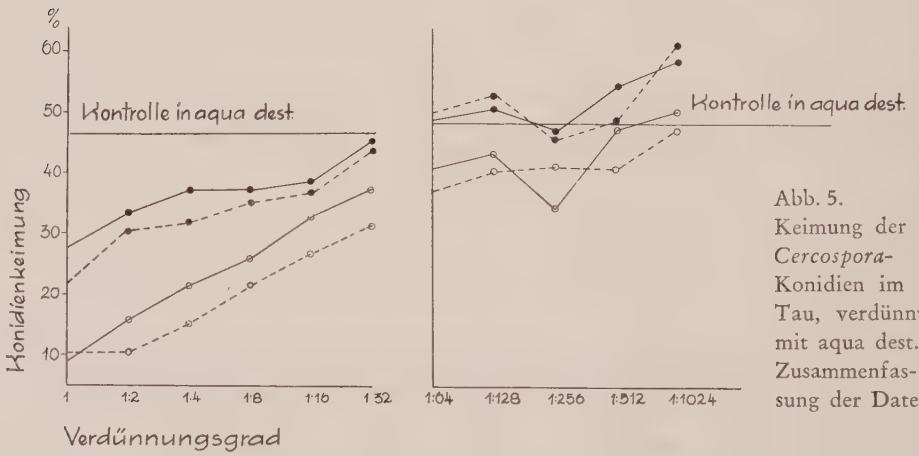

Abb. 5. Keimung der *Cercospora*-Konidien im Tau, verdünnt mit aqua dest. Zusammenfassung der Daten

Die Abb. 1 bis 5 zeigen deutlich, daß die Hemmung parallel mit der Zunahme der Verdünnung abnimmt; die Keimungsprozente erreichen jene der Kontrolle und bei den anfälligen Sorten übertreffen sie diese sogar. Der von den resistenten Sorten gesammelte Tau hat die Keimung in vierfacher Verdünnung ungefähr in dem Maße gehemmt, wie der nicht verdünnte Tau der anfälligen Sorten. Letzterer erreichte schon bei einer Verdünnung von 1 : 32 die Keimungsprozente wie in destilliertem Wasser, während der von den resistenten Pflanzen gewonnene Tau bei einer Verdünnung von 1 : 32 noch eine entschiedene Hemmung, verglichen mit destilliertem Wasser, zeigte.

Da *Cercospora beticola* auf künstlichen Nährböden nur selten und unsicher sporuliert (6, 11), müssen die Konidien stets von infizierten Blättern

entnommen werden. Dies macht die Herstellung eines ständigen und homogenen Untersuchungsmaterials schwierig, ist aber auch deswegen von Nachteil, weil der untersuchte Tropfen leicht von Staub, Bakterien, anderen Pilzen oder Protozoen verunreinigt werden kann. Um diese Nachteile auszuschalten, haben wir versucht, die Konidien der *Cercospora* durch solche von *Alternaria tenuis* zu ersetzen. Weiterhin wollten wir uns überzeugen, wie die Keimung der Sporen eines anderen Pilzes durch den aus den Rübenblättern herausgelösten Stoff beeinflußt wird. Aus Reinkulturen eine Woche nach der Überimpfung auf Agar-Nährböden wurden die *Alternaria*-Konidien abgewaschen und nach der bei *Cercospora* angewandten Methode in dem von verschiedenen Rübensorten gesammelten Tau parallel mit den *Cercospora*-Konidien zum Keimen gebracht (Tabelle 10).

Tabelle 10

Keimung der Konidien von *Alternaria tenuis* und *Cercospora beticola* in dem von verschiedenen Sorten gesammelten Tau

Sorte	Gekeimte Konidien je Pflanze in %	
	Alternaria tenuis	*Cercospora beticola*
	Mittel ± m	Mittel ± m
1. Buszczynski CLR	14,– ± 2,5	14,– ± 3,–
2. BETA K-91	10,8 ± 1,1	15,6 ± 3,1
3. BETA 1. 3 ×	14,4 ± 3,9	16,8 ± 3,8
4. Kleinwanzlebener E	23,7 ± 2,7	34,8 ± 5,2
5. Dobrowitz N	34,– ± 3,–	36,8 ± 1,4
6. Ramonyer 1537	28,8 ± 1,9	38,8 ± 1,4
7. Kontrolle in destilliertem Wasser	8,8 ± 4,8	9,2 ± 1,6
Kleinste signifikante Differenz P = 5 %	7,35	8,65
P = 1 %	10,39	11,71
P = 0,1 %	13,40	15,70

Keimung bei 25° C, 4½ Stunden. Untersucht wurden je fünf Pflanzen je Sorte und je 50 Konidien je Pflanze.

Die Daten der Tabelle 10 zeigen, daß nicht nur die Keimung der *Cercospora*-Konidien sondern auch die der *Alternaria tenuis*-Sporen gehemmt wurde. Überraschend war bei der Untersuchung die in der Wasser-Kontrolle beobachtete langsame Keimung, welche von den früheren Ergebnissen auffallend abweicht. Dies versuchten wir damit zu erklären, daß vielleicht das destillierte Wasser zu frisch war und noch keinen Sauerstoff absorbiert hat, der zum Keimen notwendig ist. Dies zeigt auch die Tatsache, daß in dem unmittelbar vor dem Keimen bereiteten destillierten Wasser die Keimung etwas langsamer vonstatten ging als in dem ungekochten. Es können aber auch viele andere Möglichkeiten mitspielen.

In einigen Fällen war die Streuung der Zahlenwerte so groß, daß sie die Sortenunterschiede überdeckte. Es ist aber niemals vorgekommen, daß die

Sporen in dem von den anfälligen Sorten gesammelten Tau regelmäßig langsamer gekeimt wären, als in dem von den resistenten Sorten gesammelten. Bei fehlenden Sortenunterschieden könnte entweder davon die Rede sein, daß die Blätter schon vor dem Sammeln des Taues (z. B. vom Regen) ausgelaugt worden sind oder daß irgendein Untersuchungsfehler dabei vorgekommen ist. Ein Fehlen der Unterschiede ist so selten vorgekommen, daß daraus auf eine Regelmäßigkeit oder auf eine kausale Kopplung nicht gefolgert werden kann.

Besprechung der Ergebnisse

Die Konidien der *Cercospora* keimen im von den Rübenblättern gesammelten Tau, Regenwasser oder in dem auf die Blätter gespritzten und von dort wieder abgesogenen destillierten Wasser langsamer als in reinem destilliertem Wasser. Es muß daher angenommen werden, daß aus den Rübenblättern Stoffe ausgeschieden bzw. herausgelöst werden, welche die Keimung der *Cercospora*-Konidien und das Wachstum der Keimschläuche hemmen. Ihr hemmender Einfluß ist bei den anfälligen Sorten gering, bei den resistenten Sorten stärker. Die Hemmung des Wachstums der Keimschläuche ist auch deswegen von Wichtigkeit, weil aus den Untersuchungen von DARPOUX, LEBRUN und ARNOUX (3) bekannt ist, daß bei *Cercospora*-Infektionen von der Kontamination bis zur eigentlichen Infektion (Eindringen der Keimschläuche in die Pflanze) ziemlich lange Zeit — vier bis fünf Tage — vergeht. In diesem Zeitraum kann eine hemmende Wirkung gut zur Geltung kommen.

Von der Hypothese, daß zwischen der Resistenz und der Zahl der Stomata je Flächeneinheit eine Korrelation besteht, muß Abstand genommen werden. Diese ist schon deshalb unwahrscheinlich, weil der Unterschied zwischen den Blattgradienten einer Pflanze größer ist als zwischen einzelnen Sorten.

Es wurde bewiesen, daß das Laubblatt die Keimung des ihm kongenialen parasitischen Pilzes durch seine Ausscheidungen nicht immer stimuliert (7), sondern im Falle der *Cercospora*-Infektion der Zuckerrübe wird die Keimung der Konidien des Erregers durch die Ausscheidungen der Rübenblätter gehemmt.

Die Untersuchungen haben zwar bewiesen, daß der von den resistenten Sorten gesammelte Tau die Keimung der Konidien in stärkerem Maße hemmt als jener von den anfälligen, es bleiben aber viele zu klärende Fragen offen. Es muß noch festgestellt werden, ob das zeitweise Ausbleiben dieses Unterschiedes bloß als ein Versuchsfehler zu betrachten ist oder ob es biologische Gründe hat? Ferner müssen noch jene Faktoren untersucht werden, welche die Hemmung und damit die Resistenz beeinflussen, vor allem aber muß die Frage des Chemismus der Hemmung geklärt werden.

Zusammenfassung

Untersucht wurden die Ursachen der *Cercospora*-Resistenz verschiedener Zuckerrübensorten. Es wurde festgestellt, daß die Konidien der *Cercospora beticola* Sacc. auf den Blättern der resistenten Sorten („US 215×216", „Kleinwanzlebener CR", „BETA K—91", „Buszczynski CLR") langsamer keimen, als auf den Blättern der anfälligen („PZHR 4", „Dobrowitz N", „Ramonyer 1537").

Die von den resistenten Sorten gesammelten Niederschläge, Tau, Regen oder aufgesprühtes und später abgesogenes destilliertes Wasser haben die Keimung der Konidien bzw. die Wachstumsgeschwindigkeit der Keimschläuche mehr gehemmt, als die von anfälligen Sorten gesammelten. Das von den anfälligen Sorten gesammelte destillierte Wasser hat, verglichen mit reinem aqua destillata, die Keimung zwar auch gehemmt, aber in geringerem Maße, als von resistenten Sorten gesammeltes Wasser (Tau). Der hemmende Einfluß des mit destilliertem Wasser verdünnten Taues nimmt ab mit dem Grad der Verdünnung.

Verschiedene Laboratoriumsbedingungen beeinflußten wohl den Verlauf der Keimung, ohne aber die Unterschiede zwischen den einzelnen Sorten zu verwischen.

Wir fanden keine regelmäßige, gesicherte Differenz zwischen dem die Keimung der Sporen bzw. das Wachstum der Keimschläuche hemmenden Einfluß des Taues, wenn derselbe von den ältesten, mittleren oder jüngsten Blättern gesammelt wurde.

Zwischen der Zahl der Stomata je Flächeneinheit der Blätter und der Resistenz der Pflanze konnte keine Korrelation festgestellt werden. Eine solche Korrelation ist um so weniger wahrscheinlich, als der bei einer Pflanze durch die Altersdifferenz zwischen den einzelnen Blättern entstandene Unterschied in der Zahl der Stomata wesentlich größer ist, als jener zwischen den einzelnen Sorten.

Wenn Blätter resistenter und anfälliger Pflanzen für längere Zeit in destilliertes Wasser eingetaucht wurden, so verhinderte das destillierte Wasser, in welches Blätter der resistenten Sorte eingetaucht waren, die Keimung der *Cercospora*-Konidien stärker als das, in welches die anfälligen Sorten eingetaucht waren, oder als reines aqua destillata.

Wie die Konidien der *Cercospora*, keimten auch die der *Alternaria tenuis* in dem von *cercospora*resistenten Sorten gesammelten Tauwasser langsamer als in jenem, welches von den anfälligen Sorten gesammelt wurde.

Literaturverzeichnis

1. Arens, K., 1935: Kann man in allen Fällen aus den Ergebnissen der Aschenanalyse Schlüsse auf Lebensfunktionen der Pflanze ziehen? Landw. Jb. **82**, 453—463.

2. Brown, W., 1922: Studies on the Physiology of the Parasitism. Ann. Bot. **36**, 257—300.

3. Darpoux, H., Lebrun, A. et Arnoux, M., 1953: Sur le phenomène de la contamination chez le *Cercospora beticola.* Publ. de l'Inst. Tech. Fr. de la Bet. Ind. 1953. dec. 13—18.
4. Eperjessy, G., 1941: A levél ásványi anyagkiválasztása („Kutikularis exkreció") tultrágyázáskor. Mezögazd. Kut. **14,** 37—47.
5. — —, 1944: Tenyészedény kisérletek a növényi levél ásványi anyag kiválasztásának meghatározására. Mezögazd. Kut. **17,** 41—50.
6. Frandsen, N. O., 1953: Konidienbildung bei *Cercospora beticola* in künstlichen Kulturen. Zucker **6,** 441—443.
7. Gäumann, E., 1946: Pflanzliche Infektionslehre. Verlag Birkhäuser, Basel.
8. Kovács, A., 1954: A cukor- és takarmányrépa virusos sárgasága. Kandidátusi értekezés tézisei. Bpest. Akad. Kiadó, 1—9.
9. Lindenberg, Heuer, H. und Zipser, 1927: Zur Bekämpfung der Blattfleckenkrankheit der Rübe. Landw. Zentralwbl. f. Polen **8,** 792—794.
10. Mudra, A., 1952: Einführung in die Methodik der Feldversuche. Verlag Hirzel, Leipzig.
11. Plotho, O. v., 1952: Weitere Untersuchungen zur Zytologie und Morphologie der *Cercospora beticola.* Zucker **5,** 379—383.
12. Saussure, Th., 1804: Recherches chimique sur la végétation.
13. Suchorukow, K. T., 1952: Fiziologija immuniteta rasztenij. Moszkva. A Sz. U. Tud. Akadémiájának kiadója.

Aus dem Institut für allgemeine Botanik der
Friedrich-Schiller-Universität Jena
Direktor: Professor Dr. Hans Wartenberg

Histologische Studien an Reblausgallen und Reblausabwehrnekrosen*)

(*Viteus vulpinae* CB. auf *Vitis vinifera* und *Vitis riparia*)

Von

W. Niklowitz

Mit 31 Abbildungen

Inhalt: A. Einleitung. — B. Material und Methoden. — C. Die Gallenbildung an den Blättern von *Vitis vinifera* var. Gutedel; a) Zur normalen Histologie der Blätter, b) Der Einstich und die primären Reaktionen des Blattgewebes, c) Die reife Galle. — D. Die Abwehrnekrose an den Blättern von *Vitis riparia pubescens* var. Klosterneuburg; a) Zur normalen Histologie der Blätter, b) Der Einstich und die ersten Reaktionen des Blattgewebes (primäre Phase), c) Der weitere Nekrotisierungsvorgang (sekundäre Phase). — E. Die Vergallung an den Wurzelspitzen (Nodositätenbildung) von *Vitis vinifera* var. Gutedel; a) Zur normalen Histologie der Wurzelspitzen, b) Der Einstich und die ersten Reaktionen der Wurzelspitzen, c) Die weitere Entwicklung der Nodositäten. — F. Die Vergallung an den verholzten Wurzeln (Tuberositätenbildung) von *Vitis vinifera* var. Gutedel; a) Zur normalen Histologie der verholzten zweijährigen Wurzel, b) Der Einstich und die ersten Reaktionen der verholzten Wurzel, c) Die weitere Tuberositätenbildung. — G. Besprechung der Ergebnisse. — Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

A. Einleitung

Die Reaktionen, welche die Rebe nach dem Befall durch die Reblaus erkennen läßt, sind je nach Reblausrasse und Rebenrasse verschieden. Die Generationen im Zyklus des Parasiten (Börner 1932) können an verschiedenen Organen ein und derselben Wirtspflanze unterschiedlich geformte und anatomisch verschieden aufgebaute Gallen erregen. Homologe Gewebekomplexe anderer Rebensorten sind imstande, hyperergisch zu reagieren, d. h. der befallene Zellkomplex stirbt ab, und mit ihm erlischt der Infekt. Im ersten Fall reagiert die Wirtspflanze normergisch: sie bringt spezifische Gallen hervor. Im zweiten Fall reagiert die Wirtspflanze hyperergisch mit Abwehrnekrosen (Börner 1934). Die Blattgallen sind einfache histioide Beutelgallen (Küster 1930), während die Wurzelgallen als Krebsgallen

*) Aus einer Dissertation Univers. Jena 1954.

(KÜSTER 1911, 1930) zu bezeichnen sind. Dabei sind bei den Wurzelgallen die Nodositäten an den jungen, noch im Differenzierungs- und Längenwachstum befindlichen Wurzelspitzen von den Tuberositäten an den verholzenden oder schon verholzten Wurzeln zu unterscheiden.

Über die Entwicklungsgeschichte der Reblausblattgallen hat ROSEN (1916) gearbeitet. Seine Studien machte er an den Blattgallen von *Vitis vulpina* L. Er hat ihr Entstehen mit den Gedanken der seinerzeit als richtig geltenden Gallentwicklungstheorien zu erklären versucht. ROSEN lehnt dabei die Anschauung ab, daß die Reblaus einen chemischen Stoff in das Blatt einführe, welcher die Vergallung verursache, wie es KÜSTER (1911), MAGNUS (1914) und BÖRNER (1927, 1939, 1942) annehmen. In einer neueren Arbeit, die ebenfalls die Entwicklungsgeschichte der Reblausgallen an den Blättern von *Vitis vulpina* L. behandelt, vergleicht STERLING (1952) deren histologische Entwicklung mit anderen Galltypen. Er kommt zu dem Schluß, daß die Reblaus spezifische Stoffe abscheidet, welche die enzymatischen Vorgänge in den Zellen verhindern oder in andere Richtungen lenken und so die Gallbildungen entstehen lassen sollen. Ähnliches hat WELLS (1920) auch für die verschiedenen *Pachypsylla*-Gallen beschrieben.

CORNU (1873, 1876, 1878) beschrieb die Entwicklungsgeschichte der Nodositäten, zum Teil auch schon der Tuberositäten. Weitere Arbeiten finden wir von MILLARDET (1889) und RAVAZ (1897) über die morphologische Entwicklung der Reblausgallen und von PETRI (1907, 1909) über die Anatomie und Histologie der Tuberositäten.

Mit der Entdeckung der Rassendifferenzierung (BÖRNER 1912) und der physiologischen Kleinrassen oder Biotypen (BÖRNER und SCHILDER 1934) der Rebläuse und ihrer verschiedenen Wirkungen bei gleichen und bei ungleichen Rebenklonen trat ein neues Moment in der Betrachtungsweise der Reblausforschung auf. „Die biologischen Unterschiede" beruhen nach BÖRNER (1943) „auf Unterschieden in den Befallsgegensätzen". Die anfälligen Reben reagieren auf den Stich der Laus mit einer Vergallung, die nichtanfälligen Reben reagieren mit einer Abwehrnekrose der betroffenen Gewebe.

BÖRNER und SCHILDER (1934) und BÖRNER (1943) geben zusammenfassende Darstellungen der Befallsbilder. Über die Histogenese der Nekrosen liegen aber noch keine zusammenfassenden Beobachtungen vor. Vereinzelte Notizen finden wir bei BÖRNER (1934, 1942, 1943, 1949). Er stellte u. a. fest, daß die nekrotischen Reaktionen der Reben an Blättern und Wurzeln ebenso einheitlich sind wie die zur Gallenbildung führenden Reaktionen.

Im Zusammenhang mit den Resistenz- und Immunitätsforschungen des Phytopathologischen Institutes in Naumburg (BÖRNER 1934, 1943 und WARTENBERG 1949) war es notwendig, die histologischen Vorgänge der Gallenbildung und der Entstehung der Nekroseflecke näher zu untersuchen. Dabei wurden besonders die ersten Entwicklungsstadien beobachtet. Die Experimentalarbeiten, welche der vorliegenden Abhandlung zugrunde liegen, hatten in erster Linie die Aufgabe, klarzustellen, welche Gewebeteile des Wirtes Angriffsziele des Parasiten und primäre Reaktionsorte des Wirtes sind.

B. Material und Methoden

Für die vorliegenden Studien wurde Reben- und Reblausmaterial aus Naumburg zur Verfügung gestellt. Als Rebenmaterial wurden Rebenstecklinge mit zweijährigen Wurzeln von *Vitis vinifera* var. Gutedel und *Vitis riparia pubescens* var. Klosterneuburg verwendet. Infektionsmaterial war der Naumburger Reblausbiotyp h (378) von *Viteus vulpinae* CB. (*Phylloxera vitifolii* CB., über die nomenklatorische Änderung bzw. Richtigstellung siehe Börner 1952). Dieser Reblausbiotyp erzeugt an der erstgenannten Rebensorte sowohl Blatt- als auch Wurzelgallen. An der letztgenannten Rebensorte ruft er sowohl am Blatt als auch an der Wurzel Abwehrnekrosen hervor.

Die Rebenstecklinge wurden in einem Sand-Humusboden-Gemisch in Blumentöpfen, die einen oberen Durchmesser von 12 cm und eine Tiefe von 18 cm hatten, im Gewächshaus des Botanischen Institutes in Jena zur Entwicklung gebracht. Nachdem sich die Rebenstecklinge kräftig entwickelt hatten, wurden sie in zeitlich verschiedenen Abständen nach der im Naumburger Institut üblichen Methode (Börner und Schilder 1934) mit dem Reblausmaterial infiziert. Entsprechend dieser Methode benutzten wir eben schlüpfende Rebläuse der Blattgallen mitsamt den vergallten Blättern vom Infektionsmaterial, die an den ausgetriebenen Zweigen befestigt wurden.

Um eine Fremdinfektion und unerwünschtes Überlaufen der Rebläuse zu verhindern, wurden die infizierten Rebenstecklinge in besondere Kammern des Gewächshauses gestellt, die mit sogenanntem Immunsand ausgestattet waren. Für die histologischen Untersuchungen wurden die jüngsten entfalteten und von Rebläusen befallenen Blätter der Triebspitzen von der Pflanze abgetrennt und fixiert. Die gleiche Behandlung erfuhren auch die weiteren Stadien der Blattgallen sowie der Nekroseflecke.

Zeitlich genau definierbare Stadien der Nodositäten erhielten wir in folgender Weise. Eine stärkere Wurzel mit kräftigen Nebenwurzeln wurde durch die untere Öffnung eines Blumentopfes hindurchgezogen. Dieser Blumentopf wurde in einen zweiten Topf von gleicher Größe und Form gestellt. Wir hatten so unter dem Boden des eigentlichen Blumentopfes eine „Infektionskammer". Der äußere und auch der untere Topf wurde zuvor mit feuchtem Filtrierpapier ausgekleidet und mit dem Infektionsmaterial ausgestattet. Als zweckmäßig erwies es sich auch, diese Versuchsanordnung in Schalen zu stellen, die mit etwas Wasser angefüllt waren, um in der Infektionskammer eine relativ hohe Luftfeuchtigkeit zu halten. Mit dieser Methode konnte die Gallenentwicklung gut verfolgt werden. Länger als sechs Tage konnte jedoch mit dieser Infektionskammer nicht gearbeitet werden, da die Wurzelspitzen dann leicht unter Pilz- und Bakterieninfektionen litten.

Das Untersuchungsmaterial wurde in einem Gemisch nach Belling (1928) fixiert. Es hatte folgende Zusammensetzung: Lösung I = Chromsäure 5 g, Eisessig 50 g, Wasser 320 g. Lösung II = Formaldehyd 175 g (33 %), Wasser 200 g. Zur Fixierung wurden Lösung I und Lösung II zu gleichen Teilen gemischt. Die Fixierung dauerte gewöhnlich 24 Stunden. Das fixierte

Material wurde darauf in fließendem Leitungswasser ausgewaschen und in üblicher Weise entwässert. Als Intermedium wurde Xylol verwendet. Die Objekte wurden dann in Paraffin mit Schmelzpunkten von 52 bzw. 56 ° C überführt. Die Schnittdicke der Mikrotomschnittserien betrug 7 μ, bei den Tuberositäten 10 bis 15 μ. Die Präparate sind mit einer 4%igen Eisenalaunlösung gebeizt und mit Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN gefärbt worden. Als Gegenfärbung kam Eosin oder Lichtgrün zur Anwendung.

Die Zeichnungen wurden mit Hilfe eines Zeiß-Zeichenprismas, die Mikroaufnahmen mit der Kleinbildkamera „Praktica" und der Mikrokamera „Mifilmca" ausgeführt.

C. Die Gallenbildung an den Blättern von *Vitis vinifera* var. Gutedel

a) Zur normalen Histologie der Blätter

Der Vergleich von normalem und pathologisch verändertem Gewebe war bei allen Reblausgallen, außer bei den Nodositäten, insofern erleichtert, als man diese Beobachtungen an denselben Querschnitten und demzufolge unter gleichmäßigen Bedingungen des Präparierens machen konnte, da das Gewebe außerhalb des Reizfeldes der Reblaus im normalen Aussehen und auch in der Entwicklung stets normal war.

Wenn das Blatt etwa 1/2 cm groß ist, besteht der Blattquerschnitt aus sechs Zellschichten, die von der Oberseite zur Unterseite des Blattes mit den Zahlen I bis VI bezeichnet werden. Die Zellschicht I ist die obere, die Zellschicht VI die untere Blattepidermis. Die Zellschichten II und V sind die hypodermalen Zellschichten, die auf diesem Blattstadium schon stärker vakuolisiert sind als die übrigen Zellen des inneren Mesophylls. Dabei ist der Zellkern im Zentrum der Zelle und wird in dieser Lage durch Plasmastränge festgehalten. In den Zellen der Lage II war eine Anhäufung von Gerbstoffen zu finden. Während die Zellen der Lage II in dem folgenden Wachstum zu einschichtigen Palisadenzellen werden, tragen die Zellen der Lage V zum späteren Schwammparenchym mit bei.

Zur Zeit des Einstiches der Reblaus sind die Lagen III und IV typische Meristemzellen, bei denen der Kern einen großen Raum einnimmt und deren übrige plasmatischen Anteile in den Zellen ohne Vakuolisierung gleichmäßig verteilt sind, während die Zellen der übrigen Zellschichten schon mehr oder weniger fortgeschrittene Stadien der Vakuolisierung zeigen. In allen Zellagen ist die antikline Zellteilung vorherrschend. Die Gefäßbündel der Hauptnerven sind bereits ausdifferenziert, während die übrigen Gefäßbündel sich noch im embryonalen Zustand befinden, d. h. noch den Charakter prokambialer Stränge besitzen. Sie werden hauptsächlich aus der Zellschicht III gebildet, wobei sich einzelne Zellen zunächst in perikliner Richtung teilen.

Das weitere Wachstum ist durch die Zellstreckung und Vergrößerung der einzelnen Zellen der Zellschichten bestimmt. Diese Vorgänge gipfeln schließlich in der Ausdifferenzierung der einzelnen Lagen des Mesophylls. Unter anderem entstehen langgestreckte, Raphidenbündel enthaltende Zellen, die

meist dicht unterhalb der Palisadenzellen zu finden sind. Beim alten, ausgewachsenen Blatt ist die Anzahl der Zellschichten dieselbe, wie sie schon für das erste Stadium (s. o.) beschrieben wurde. Das Mesophyll besteht aus der einschichtigen Palisadenzellschicht und einem dreischichtigen Schwammparenchym. Haarbildungen treten beim Blatt sowohl auf der Oberseite als auch auf der Unterseite auf, und besonders häufig sind sie an den größeren Haupt- und Nebennerven zu finden.

b) Der Einstich und die primären Reaktionen des Blattgewebes

Die Gallenbildung bei den anfälligen Rebensorten beginnt, wenn das Insekt in das Gewebe einsticht und das befallene pflanzliche Organ mit der Bildung eines spezifischen Gallgewebes antwortet (Küster 1911). Nur durch die Bildung eines spezifischen Gallgewebes ist die Laus befähigt, sich weiterhin zu ernähren und zu vermehren (Börner 1932, Stellwaag 1928).

Nachdem die Reben infiziert sind, wandern die Rebläuse zu den Triebspitzen und stechen mit ihren Stechborstenbündeln in die noch nicht ausdifferenzierten, also noch embryonalen Blätter ein. Hierbei erfolgt der Einstich bevorzugt von der Oberseite des Blattes und, wie weiter festgestellt werden konnte, meist in der Nähe eines größeren Blattnervs. Ob die erste Tatsache auf die Blattstellung und die Blattdeckung der Sproßspitze und die dann nachfolgende Entfaltung des Blattes zurückzuführen ist oder ob der Parasit eine sogenannte „Rückendeckung" (Börner 1952) braucht, kann hier nicht beurteilt werden. Man findet aber auch, daß einzelne Rebläuse von der Unterseite des Blattes ins Gewebe einstechen. — Sterling (1952), der ebenfalls diese Beobachtung machte, stellte in seinen Untersuchungen fest, daß auch in diesem Falle die primäre Gallbildung so verläuft, als wenn der Einstich von der Oberseite des Blattes erfolgt wäre. In diesem Falle verläßt die Reblaus in einem jüngeren Gallstadium die Stichstelle und unterbricht die Nahrungsaufnahme. — Auffallend ist die Beobachtung, daß das Stechborstenbündel häufig in der Nähe eines Gefäßbündels dritter Ordnung, das sich aus der Zellschicht III entwickelt und noch prokambialen Charakter hat, eingestochen wird. Das Stechborstenbündel erreicht gewöhnlich die zweite oder dritte Zellschicht. Es werden also die hypodermalen Zellen angestochen, aus denen sich später die Palisadenzellen entwickeln oder die Zellen der ersten mittleren meristematischen Zellschicht, die zu Schwammparenchymzellen ausdifferenziert werden. Das Stechborstenbündel ist ungefähr 110 bis 155 μ lang. Der zu unseren Untersuchungen verwendete Reblausbiotyp gehört der kurzrüsseligen Rasse an (Börner 1924, 1925, 1943, Börner und Schilder 1934). Die Laus sticht nicht mit der ganzen Länge ihres Stechborstenbündels in das Blattgewebe ein. Während das embryonale Blatt eine Dicke von ungefähr 70 μ besitzt, beträgt der Einstich in das Blattgewebe nur ungefähr 30 μ. An einzelnen Schnitten konnten auch größere Stichtiefen beobachtet werden. Rosen (1916) zeigte einen Einstich bis zur Zellschicht V, und Sterling (1952) beschrieb vollständige Durchstiche durch das Blatt. Darüber hinaus konnten

wir in einzelnen Fällen sogar Einstiche in die darunterliegenden Nebenblätter beobachten. In der überwiegenden Mehrzahl der Fälle jedoch werden nur die Zellen der Zellschichten II und III angestochen. Über die Art und Weise der Nahrungsaufnahme, d. h. ob die Laus der aktive oder nur der passive Partner bei diesem Vorgang ist, kann noch nicht entschieden werden. WARTENBERG (1954) neigt zu der Ansicht, daß die Laus nur der passive Teil ist und die Nahrungsaufnahme eine Folge des Überdruckes der angestochenen Zellen ist. Von Wichtigkeit ist die Tatsache, daß die Laus, wenn sie einmal eingestochen hat und das Blattgewebe mit einer Vergallung reagiert, an der Stichstelle verbleibt. Der Parasit verharrt während seines Wachstums bis zur Eiablage, also bis zu seinem individuellen Tod, an ein und derselben Stichstelle. Dieser Lebenszyklus dauert gewöhnlich drei bis vier Wochen (RATHEY 1871, ROSEN 1916, STERLING 1952).

Gleichzeitig mit dem Eindringen des Stechborstenbündels in das Gewebe des Blattes bildet sich eine sogenannte Stichkanalspur aus, die in allen angestochenen und durchstochenen Zellen zu finden ist (CORNU 1873, PETRI 1907). In den durchstochenen Zellen verläuft die Stichkanalspur von Zellwand zu Zellwand, wobei sie an den durchstochenen Zellwänden Verdickungen in Form wulstiger Ringe erfahren kann. Die Kontinuität der Stichkanalspur wird also durch die Zellwände unterbrochen, durch die das Stechborstenbündel glatt hindurchgeht, ohne daß es hier zur Ausbildung einer das Stechborstenbündel begrenzenden Scheide kommt. Wie auch bei der Blutlaus (WARTENBERG 1954) kann die Stichkanalspur außerdem mit mehr oder weniger zahlreichen warzigen Anhängen und Verdickungen versehen sein. Diese eigentümliche Form und Gestalt der Stichkanalspuren ist besonders bei verlassenen Stichkanalspuren zu beobachten. Sie lassen sich mit Hämatoxylin nach HEIDENHAIN intensiv anfärben (RAWITSCHER 1933/34).

Nach unseren Untersuchungen über den Stichkanalverlauf und den Einstich selbst gehört die Reblaus, nach einer allgemeinen Einteilung von BÜSGEN (1892), dem Pflanzensaugertypus an, der intrazellulär in das befallene pflanzliche Gewebe einsticht, wie es auch WARTENBERG (1954) erneut für die Blutlaus beschreibt. Dabei verläuft der Einstich und die Stichkanalspur immer glatt durch die Zellen des befallenen pflanzlichen Organs. Der Stichkanal endet in einer einzigen Spitze. Probestiche, d. h. spreizende Verzweigungen der Spitze des Stichkanals, wie sie PETRI (1907) für die Reblaus gezeigt, RAWITSCHER (1933/34) für die frei lebenden Blattläuse *Brachycaudina napelli* Schrk. und *Aphis fabae* Scop. beobachtet und WARTENBERG (1954) für die Blutlaus beschrieben hat, konnten wir an unserem Untersuchungsobjekt nicht feststellen.

An allen Objekten konnte die Stichkanalspur auch außerhalb des Gewebes als extrazelluläre Scheide, die wir als „Einstichkragen" bezeichnen wollen, an der Oberfläche des Pflanzenorgans wahrgenommen werden. Während in jungen Stadien der Zezidiogenese dieser Einstichkragen aus einem oder aus zwei wulstigen Ringen bestehen kann, erfährt er in älteren Stadien, d. h. nach längerer Dauer des Saugaktes, eine Längenzunahme, so daß in

einigen Fällen das ganze Stechborstenbündel auch außerhalb des pflanzlichen Gewebes vom Einstichkragen umgeben ist. Die Länge des Einstichkragens hängt demnach offenbar von der Dauer des Saugaktes ab. Dabei kann der Einstichkragen sowohl eine glatte als auch eine warzige Oberfläche besitzen.

Das Auftreten eines Einstichkragens stimmt mit der Beobachtung von ZWEIGELT (1915) überein, der diese Erscheinung ebenfalls für andere Objekte beschrieben hat. Er begründet das Auftreten der scheidenaufbauenden Substanz auch außerhalb des Gewebes damit, daß die Scheidensubstanz (Speichel) schon vor dem Einstechen in das Gewebe der Wirtspflanze abgesondert wird (Abb. 1).

Abb. 1. Stechborstenbündel während des Einstiches in die Epidermiszelle

Der herabgeflossene Insektenspeichel hat dieselbe Farbstoffabsorption wie die intrazelluläre Stichkanalspur. Man kann vermuten, daß die Substanzen, die den Einstichkragen und die Stichkanalspur bilden, identisch sind. WARTENBERG (1954) wirft im Zusammenhang mit der intrazellulären Stichkanalspur bei der Apfelblutlaus die Frage auf, ob die Substanz der Stichkanalspur vom Stechborstenbündel und damit vom Insekt ausgeschieden wird oder ob sie eine Ausfällung (Niederschlagsmembran) oder Ausscheidung aus dem Protoplasma der Wirtszelle darstellt. Man könnte daran denken, daß das Zellinnere auf den Fremdkörperreiz mit der Ausscheidung einer abgrenzenden oder abkapselnden Substanz reagiert. Nach WARTENBERG kann diese Frage jedoch noch nicht definitiv beantwortet werden.

Der Saugakt der Reblaus muß ein kontinuierlicher sein; denn nach den Untersuchungen von BÖRNER (1927) unterbleibt die Weiterentwicklung der Galle, wenn durch irgendeinen Vorgang die Laus den Stichbereich verläßt.

In den ersten Stunden des Saugaktes weisen die durchstochenen Zellen und die Zellen im engsten Reizfeld keine mikroskopisch feststellbaren Veränderungen auf. Es ist nur die beschriebene Stichkanalspur zu sehen (s. oben). Die durchstochenen Zellen behalten zunächst ihre Form, die sich dann nach zwölf Stunden zu verändern beginnt. Die antiklinen Zellwände der durchstochenen Zellen und die äußere Epidermiszellwand beulen sich nach und nach in das Zellumen ein. Schließlich kann man in der fertig ausgebildeten Galle, also nach einem Zeitraum von etwa 14 Tagen, beobachten, daß die durchstochenen Zellen vollkommen zusammengedrückt sind. Es ist anzunehmen, daß die durchstochenen Zellen allmählich den Turgor verlieren und von den umgebenden, im festen Gewebeverband stehenden, noch vollturgeszenten

Nachbarzellen ein- und schließlich ganz zusammengedrückt werden. Ähnliche Beispiele beschreiben KÜSTER (1916) und GÄUMANN (1951), die zur Erklärung dieser Erscheinungen ebenfalls einen Verlust des Turgors annehmen.

Gleichzeitig mit der Erscheinung des Turgorschwundes setzt eine Veränderung des Plasmas aller davon betroffenen Zellen ein, welche sich in unseren fixierten und gefärbten Präparaten durch eine veränderte Farbstoffabsorption bemerkbar macht. Das Zytoplasma der durchstochenen Epidermiszelle fällt als blasige Masse aus. Hat es diesen Zustand erreicht, dann nimmt es beim Präparieren intensiv Farbstoff (Hämatoxylin) auf. Postmortal ist das Zytoplasma braun verfärbt. WARTENBERG (1954) vermutet oxydativ bedingte Änderungen des Stoffinhaltes der Zelle (vgl. KÜSTER 1916).

Die Zellen der Lage II enthalten reichlich Gerbstoffe, die den größten Teil des Lumens ausfüllen können. Während aber die Gerbstoffe der angestochenen oder durchstochenen hypodermalen Zellen homogen ausfallen, erscheinen die Gerbstoffe in den übrigen, nicht geschädigten Zellen der Lage II als granuläre Gebilde. Später in der Gallbildung kann man im engeren Reizfeld die Gerbstoffe nicht mehr wahrnehmen.

Die Zellkerne der durchstochenen Zellen werden beim Präparieren intensiver gefärbt. Man beobachtet sehr häufig, daß der Zellkern der angestochenen Zelle unterhalb der Stechborstenbündelspitze liegt. In fortgeschrittenen Stadien der Vergallung kann sich der Kern in den Zellen des Reizfeldes der Beobachtung entziehen. Ob er einer raschen Lyse unterliegt oder ob andere Prozesse dafür verantwortlich zu machen sind, kann nicht gesagt werden. Jedenfalls scheint der Kern schneller einer durch Einstich und Saugakt hervorgerufenen Degeneration zu unterliegen als die übrigen plasmatischen Anteile der Zelle.

Während das Zytoplasma der Epidermiszellen blasig ausfällt, zeigt das Zytoplasma der übrigen durchstochenen Zellen eine granuläre Struktur. Schließlich ist es als verklumpte Masse koaguliert. Ein Teil des koagulierten Plasmas liegt dabei als Wandbelag vor und ist durch stärkere Farbstoffabsorption gut sichtbar zu machen (STERLING 1952), während ein anderer Teil die Stichkanalspur des Stechborstenbündels umgeben kann. Sehr häufig war zu beobachten, daß die Plasmaschicht, welche die Vakuole begrenzt, also der Bereich des Tonoplasten, sich als verdickte und intensiv farbstoffspeichernde Membran auszeichnet.

In der Nachbarschaft der durchstochenen Zellen, also im engsten Reizfeld, wird während der ersten Vorgänge der Gallenbildung die normale Zellform beibehalten. Eine durch den Einstich hervorgerufene mikroskopisch sichtbare Schädigung tritt in diesen Zellen meist nicht ein. Geringe Ausnahmen machen nur die Zellen in den mittleren, meristematischen Zellschichten, die offenbar dem Einfluß des Insektenspeichels in stärkerem Maße unterliegen. In unseren Schnitten können wir diese Tatsache aus der intensiveren Farbstoffabsorption sowohl des Zytoplasmas als auch des Kernes schließen. Von allgemeiner Bedeutung ist auch die Tatsache, daß die Zellkerne im engeren Reizfeld an der Zellwandseite zu beobachten sind, die sich dem Einstichbereich

am nächsten befindet, wobei hier gleichzeitig größere Zytoplasmamassen lokalisiert sind. Es liegt die Vermutung nahe, daß es sich um eine aktive Wanderung der Zellkerne in Richtung zur Wunde handelt, wie sie wiederholt für pathologische und normale Wachstumsprozesse in der Literatur beschrieben wurden (vgl. z. B. HABERLANDT 1887).

In der ersten Phase der Gallenbildung beobachtet man im Reizfeld besonders häufig Zellteilungen in der antiklinen Richtung, wie sie in geringerem Maße auch im normalen Blatt vorkommen. Allerdings unterbleiben bei fortschreitender Saugtätigkeit des Parasiten im engeren Reizfeld weitere Zellteilungen. Die Zone des engsten Reizfeldes bleibt als eine sichtbare Hemmzone erhalten (Abb. 2, 3, 4). Die Anzahl der Zellagen im Hemmbereich ist dieselbe wie zur Zeit des Einstiches.

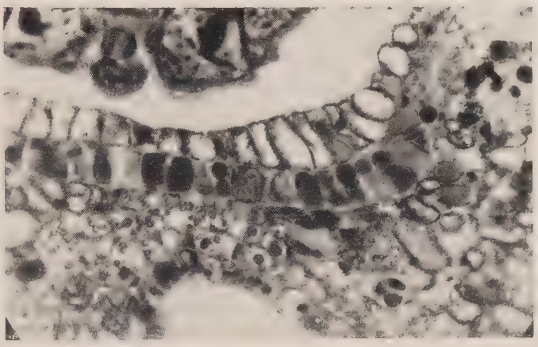

Abb. 2. Querschnitt durch ein älteres Stadium einer Galle, Hemmbereich unterhalb der Laus

Abb. 3. Querschnitt einer Galle

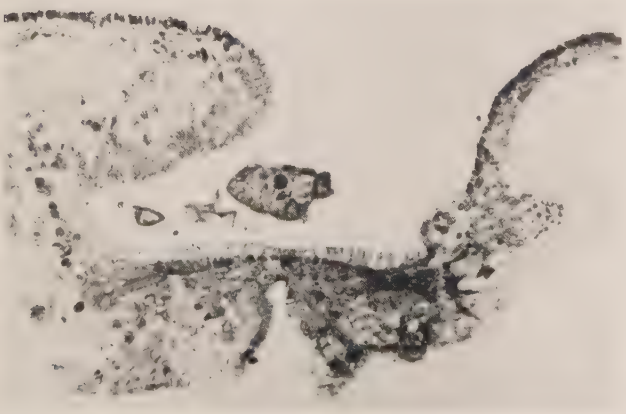

Abb. 4. Querschnitt durch eine Galle. Auf der linken Seite eine Lippe

Die Erscheinung einer unmittelbaren Hemmung im engeren Stichbereich ist vermutlich als eine Folge der Verletzung der durchstochenen Zellen und des darauffolgenden Ausbleibens der Zellteilung anzusehen. Während also im weiteren Reizfeld nach längerer Saugtätigkeit des Parasiten vermehrte Zellteilungen auftreten, sind hier im engsten Reizfeld, in der Hemmzone, keine Zellteilungen zu finden. Diese hemmende Wirkung des Reblausstiches macht sich nur in bezug auf die Kern- und Zellteilung und auf die Differenzierung der Zellen bemerkbar. Die Zellvergrößerung unter starker Vakuolisierung bleibt davon unberührt. Der Querschnitt des normal ausdifferenzierten Blattes und der Querschnitt im Hemmbereich der Galle zeigen dieselbe Dicke (Abb. 4).

Die Hemmung im engsten Reizfeld ist die erste bemerkenswerte Abweichung von der normalen Histogenese. In den darauffolgenden Stadien sind im weiteren Reizfeld, in der Zellage III, zahlreiche sukzessive perikline Zellteilungen zu beobachten. Die Häufigkeit der Teilungen erreicht etwa 15 bis 20 Zellen vom Einstich entfernt ihr Maximum und umgibt das Reizfeld in Form einer ringförmigen Zone. Hier kommt es nur zur Ausbildung eines Gallmeristems (BEYERINCK 1882 = Gallplastem, KÜSTER 1911). Es ist bemerkenswert, daß dieses Meristem keine strenge Lokalisation im Gallgewebe aufweist, sondern daß es mehr oder weniger strangförmig verzweigt im Gallgewebe auftreten kann.

Die unterschiedlichen Zellteilungen, wie sie durch lokale Hemmungen und Förderungen zustande kommen, führen dazu, daß das Blatt mit fortschreitender Entfernung vom Einstichbereich an Dicke zunimmt. Sie führen zu anomalen Gewebespannungen, zumal infolge des fortschreitenden Vergallungsreizes der Hyperplasie eine Hypertrophie folgt. Nun zeigt sich auf der Blattunterseite um die Einstichstelle zunächst eine ringförmige Aufwölbung. In diesem Bereich bleiben Zellen teilungsfähig oder werden vielleicht durch den Spannungsreiz wieder teilungsfähig, so daß es zur Ausbildung weiterer Gallmeristeme kommt.

Die folgende Entwicklung der Galle ist teils durch das normale Wachstum der Blattspreite und teils durch das anomale Wachstum des Gallenparenchyms bedingt. Der Blattabschnitt unter dem Parasiten sinkt unter Erhaltung der Hemmzone in das Gewebe ein (Abb. 3). Er bleibt dabei flach und hat einen Durchmesser von 40 bis 50 Zellen.

Während das Gewebe unterhalb des Parasiten unter die übrige Blattfläche einsinkt, beginnt in der Zellschicht II eine rege anti- und auch perikline Zellteilung. Durch diese anomale Gewebeproduktion wird der Rand der zunächst seichten Höhlung emporgehoben und bildet einen konzentrischen, zylindrischen Mantel um die nach und nach tiefer werdende Larvenhöhle. Die weitere Entwicklung führt dazu, daß die an der Blattoberseite erfolgte Zellvermehrung auf zwei oder drei Stellen lokalisiert bleibt und demzufolge ein zwei- oder dreilippiges, wenn auch unvollständiges Dach über der Larvenkammer gebildet wird. Abb. 4 zeigt auf der linken Seite den Querschnitt durch eine solche Lippe. Außerdem ist auf der rechten Seite des Bildes zu

sehen, daß Gewebeanomalien ausbleiben, wenn ein größerer Blattnerv in die Galle mit einbezogen wird. Ein solcher Blattnerv kann die Ausdehnung der Vergallung begrenzen. In Fortsetzung dieser Lippen sowie auch auf dem übrigen Rand des blattoberseitigen Mantels beobachtet man dann einzellige oder auch mehrzellige Haare (Abb. 3), die die Larvenkammer mehr oder weniger abschließen. Die Beutelgalle der Reblaus besitzt also blattoberseits eine nur durch Haare verdeckte Öffnung. Der Vorgang der Überdachung findet bei den Beutelgallen von *Vitis vinifera* nur unvollkommen statt, bei den Beutelgallen der Amerikanerreben kann sie stärker in Erscheinung treten (Rosen 1916, Sterling 1952).

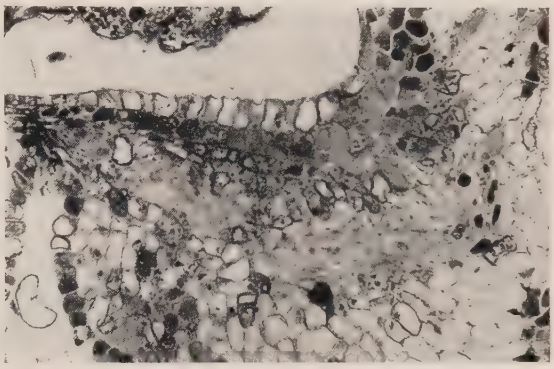

Abb. 5. Querschnitt durch den rechten Teil einer Galle, meristematische Zellbezirke

Während das Gewebe unterhalb der Laus einsinkt und die blattober- und -unterseitige Hyperplasie fortschreitet, hypertrophiert das Gewebe der sich bildenden Galle vom Gallmeristem beginnend und allmählich zum Hemmbereich abklingend (Abb. 3, 4, 5, 7). Im hypertrophierenden Gewebe der Galle liegen Gefäßbündel verstreut, die mehr oder weniger vollständig ausgebildet sein können. Sie werden von massigen Strängen meristematischer Zellen begleitet. Das Ganze erweckt den Eindruck, als ob die Gewebespannungen ständig zur Bildung sekundärer Meristeme reizen. Die Gefäßbündel bilden ein ausgedehntes Netz und kommunizieren (Abb. 6). Meist findet man sie noch im prokambialen Zustande. Eine vollkommene Ausbildung der wasserleitenden Zellelemente beobachtet man häufig im Hemmbereich der Galle. Das hyperplasierte und hypertrophierte Gewebe der Galle ist also reichlich mit Gefäßbündeln versorgt. Die ursprünglich angelegten Gefäßbündel sollen das Gallgewebe versorgen können (Sterling

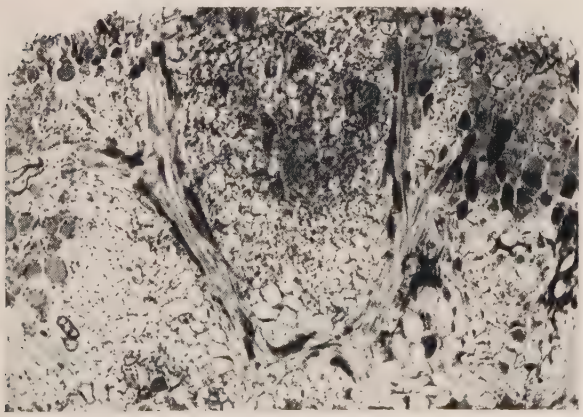

Abb. 6. Tangentialschnitt durch das Gewebe einer Galle, Schnittebene senkrecht zur Oberfläche der Blattlamina

1952). Die Gefäßbündel der Galle stehen natürlich mit den übrigen Gefäßbündeln des normalen Blattes in Verbindung. Die geschilderten meristematischen Bereiche im Gewebe der Galle produzieren nun in der Folgezeit die Zellen, die letzten Endes das Gewebe der Galle ausmachen. Die Entwicklung ist nach einer Periode von 14 Tagen abgeschlossen, die histioide Beutelgalle ist dann vollkommen ausgebildet.

c) Die reife Galle

Mit dem Abschluß des Wachstums der Galle ist die Anschwellung 35 bis 50 Zellen hoch (Abb. 7). Während der Boden der gebildeten Larvenkammer flach bleibt, bilden sich an der Unterseite der Beutelgalle zahlreiche Höcker aus, die meist in einzellige, langgestreckte Zellen auslaufen (Abb. 8). Die epidermalen Zellen des Bodens der Larvenhöhle sind in senkrechter Richtung gestreckt, während sie im normalen Blatt eine Streckung in tangentialer Richtung erfahren.

Abb. 7. Querschnitt durch eine reife Galle

Schon während der Histogenese der Gallen treten in ihren Zellen stoffliche Veränderungen auf, die sich letzten Endes in der Herausdifferenzierung der sogenannten nutritiven Zone (KÜSTER 1930) äußern (STERLING 1952). Dieser Bereich grenzt unmittelbar an das engere Reizfeld und besteht aus sehr dunklen Zellmassen (Abb. 7, 8, 9) unterhalb der Larvenhöhle. Diese Zellen sind mit Substanzen angefüllt, die in unseren Präparaten als granuläre ergastische Gebilde zu beobachten waren. Dabei ist bemerkenswert, daß im unmittelbaren Stichbereich keine Stärkekörner vorzufinden sind, während in einer gewissen Entfernung davon eine Häufung von Stärke zu beobachten ist. Die Häufung der Stärke kann man als

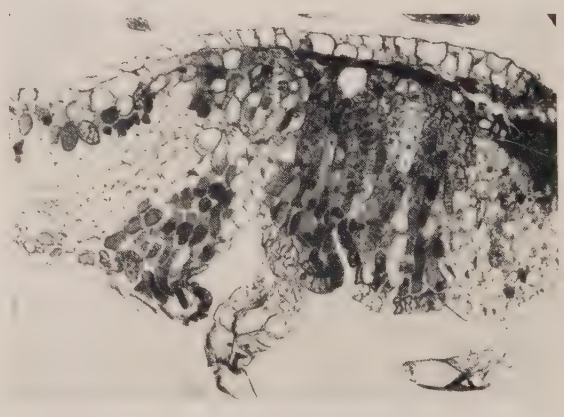

Abb. 8. Querschnitt einer Galle mit den Höckern und Auswüchsen auf der Unterseite der Galle

eine pathologisch bedingte Stärkeschoppung bezeichnen, wie es auch HABERLANDT (1918) an anderen Objekten und WARTENBERG (1954) für den Fall der Blutlausvergallung beschrieben haben.

Beim Reifungsprozeß der Galle werden die Gefäßbündelelemente vergrößert und gleichen schließlich denen der normalen Gewebe. Auf der Unterseite der Galle werden nur wenige Stomata gefunden. Sie sind verhältnismäßig klein. Daraus läßt sich schließen, daß während der Gallbildung keine Differenzierung von Zellen stattfindet und deshalb auch keine neuen Stomata angelegt werden. Zum größten Teil besteht das Gewebe der Galle aus undifferenzierten parenchymatischen Zellen. Im Vergleich zum normalen Gewebe treten hier Interzellularen von geringer Größe auf. Außerdem sind in diesen Zellen nur wenige, kleine Chloroplasten zu finden.

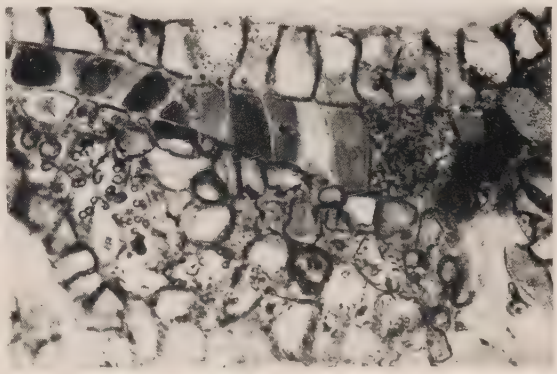

Abb. 9. Querschnitt durch die nutritive Zone der rechten Hälfte einer Galle

D. Die Abwehrnekrose an den Blättern von *Vitis riparia pubescens* var. Klosterneuburg

a) Zur normalen Histologie der Blätter

Zur normalen Anatomie und Histologie sowohl des embryonalen Blattes, auf dem der Einstich erfolgt, als auch des alten, schon ausdifferenzierten Blattes von *Vitis riparia pubescens* var. gilt das, was bei der Beschreibung der Blätter von *Vitis vinifera* gesagt wurde. Nur in bezug auf den Gerbstoffgehalt der einzelnen Zellen und Zellschichten ist zu bemerken, daß das Mesophyll der Amerikanerrebe *Vitis riparia pubescens* var. diese Inhaltsstoffe in geringerem Maße enthält als das Blattgewebe der Europäerrebe *Vitis vinifera*.

b) Der Einstich und die ersten Reaktionen des Blattgewebes (primäre Phase)

Es werden zwar alle Reben der Gattung *Vitis* (BÖRNER 1943) von der Reblaus aufgesucht und angestochen; die unanfälligen (immunen) Reben reagieren jedoch auf den Reblausangriff nicht mit Gallenbildung, sondern mit einer Abwehrnekrose, d. h. mit einer nekrogenen Abwehrreaktion. Dabei sterben ganze Zellkomplexe im Stichbereich ab, die makroskopisch als Stichflecke oder Nekroseflecke zu erkennen sind. Die „Abwehrreaktion" ist bei verschiedenen und auch bei denselben Rebensorten nicht einheitlich. Es treten stets mehrere Formen der Nekroseflecke auf. Eine Zusammenstellung aller Reaktionstypen geben BÖRNER und SCHILDER (1934).

Die makroskopisch sichtbaren Erscheinungen äußern sich zunächst darin, daß Haarbildungen, wie sie bei der Gallenbildung auftreten, gänzlich unterbleiben. Ebenso wölbt sich das Reizfeld nicht oder nur in jugendlichem Zustand blattunterseits etwas vor. Der Durchmesser der Stichflecke beträgt 1/4 bis 1 1/2 mm. Im allgemeinen wird das Blattgrün gänzlich zerstört, und die Stichflecke bzw. deren Ränder sind chlorotisch und durchscheinend. Diese chlorotischen Blattpartien sind bei Lupenvergrößerung ungeadert.

In der Hauptsache treten bei unserer Kombination von Reblausbiotyp und Rebensorte zwei Formen der Nekroseflecke auf:

1. Die Stichflecke sind kleine, rundliche und schon frühzeitig dunkelbraun bis schwarz verfärbte Punkte, die von einem schmalen, glashellen Hof umgeben sind. Der Hof ist etwa so breit wie der dunkle Mittelfleck, und seine Grenze ist zum unveränderten, grünen Blattgewebe meist sternförmig gezackt.
2. Diese Formen der Stichflecke entsprechen weitgehend den unter 1. beschriebenen. Der Mittelfleck ist jedoch grün oder gelblich umsäumt. Der Saum ist im Gegensatz zu 1. geadert und ebenfalls schmal. Auf jugendlichem Stadium, selten dauernd, kann das Reizfeld unregelmäßig geadert sein.

Im allgemeinen ist die Folge beider Reaktionsnormen, daß die Laus abwandert oder stirbt, ohne sich zu häuten. Über die Ursachen der oben beschriebenen Unterschiede kann zur Zeit nichts gesagt werden.

Ebenso wie bei der Vergallung sticht auch im Falle der nekrogenen Abwehrreaktion die Reblaus ihr Stechborstenbündel in die Zellen des Gewebes eines jungen, wenig differenzierten Blattes ein, und zwar ebenfalls unter Ausbildung eines extrazellulären Einstichkragens und einer Stichkanalspur in den durchstochenen Zellen. Der Einstich selbst erfolgt nicht sofort bis zur endgültigen Stichtiefe. Die Zellen des Blattgewebes werden in Zeitabständen nacheinander durchstochen. Das Stechborstenbündel erreicht zunächst die Epidermiszelle. Bei etwas längerer Dauer des Saugaktes der Laus dringt es in die Zellage II vor. In dieser Stichtiefe kann das Stechborstenbündel verbleiben, oder es wird schließlich noch eine Zelle der Lage III angestochen. In diesen beiden am häufigsten beobachteten Stichtiefen bleibt das Stechborstenbündel, bis der Parasit durch die nekrogenen Abwehrreaktionen der Wirtspflanze gezwungen ist, diese Stelle des Blattes zu verlassen.

Die angestochene Zelle verliert ihre Turgeszenz, was zur Folge hat, daß sie von den vollturgeszenten Nachbarzellen eingedrückt und im weiteren ganz zusammengedrückt werden kann. Die Nachbarzellen dehnen sich in das Lumen der durchstochenen Zelle aus, wobei ihre Wände uhrglasförmig gebogen erscheinen. Die äußere Zellwand der angestochenen Epidermiszelle ist eingesunken.

Mit dem Verlust der Turgeszenz erscheinen auch Veränderungen des Protoplasten. Die Kernwand und zum Teil der Tonoplast werden zu derben Membranen. Die Kerne sind außerdem stärker färbbar als die der übrigen

Zellen im engeren Reizfeld. Das Zytoplasma, besonders das der Zellen in den meristematischen Schichten des Mesophylls, ist zunächst auf der Seite von der Zellwand losgelöst, von welcher der Angriff des Stechborstenbündels erfolgt.

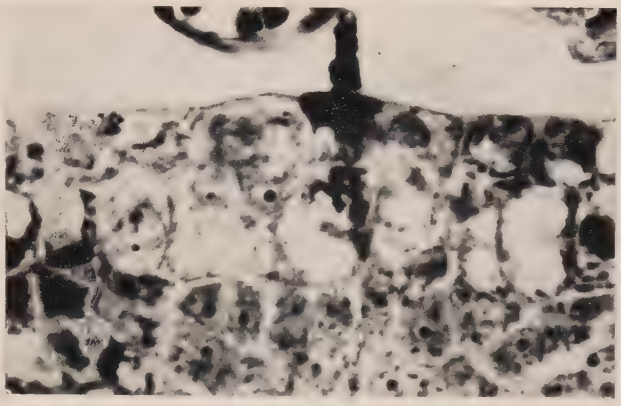

Abb. 10. Blattquerschnitt mit einem Einstich in die Zellage II

Das erste sichtbare Zeichen des Verfalls der Zelle besteht darin, daß sich der Zellinhalt in eine einheitliche, stärker färbbare körnige Masse verwandelt. Der Zerfall des Zellinhaltes erscheint stets zunächst auf der Einstichseite (Abb. 10). Schließlich ist die Erscheinung am gesamten Plasma der Zelle zu erkennen. Dabei koaguliert es und verklumpt vollständig. Es verfärbt sich dabei dunkelbraun bis schwarz.

Die geschilderten prae- und postmortalen Erscheinungen sind dann nach längerer Dauer des Saugaktes der Laus auch in den Zellen des engeren Reizfeldes, also im Umkreis der durchstochenen Zellen zu beobachten. Jedoch folgt der Zerfall des Plasmas hier langsamer als in den durchstochenen Zellen, weil ja bei ihnen die mechanische Schädigung nicht gegeben ist. Die Zellkerne sind intensiver färbbar. Das Zytoplasma hebt sich auf der stichzugewandten Seite von der Wand ab und ist dort nach dem Präparieren intensiv gefärbt. Der engere Stichbereich läßt sich demzufolge immer intensiver färben als das entferntere Reizfeld.

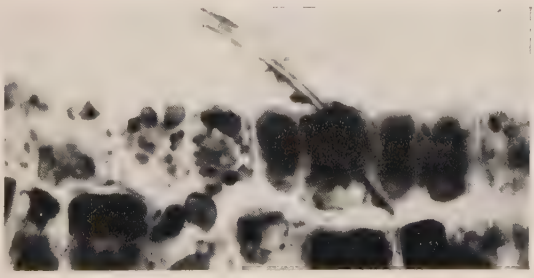

Abb. 11. Blattquerschnitt mit eingestochenem Stechborstenbündel. Eindellung der Zellen im engeren Reizfeld zum Einstich hin

Dieselben Erscheinungen treten dann nach und nach auch in dem Bereich des weiteren Reizfeldes auf (Abb. 11). Die Nekrose beginnt auch dort immer mit einem Turgorverlust und einer Ausbeulung der Zellwände zum Einstich; nur ist der Effekt hier nicht so stark ausgeprägt wie bei den durchstochenen Zellen. In den Zellen der Lagen III und IV sind die Erscheinungen früher festzustellen als in den übrigen Zellen des Reizfeldes. Gerade in diesen meristematischen Zellen tritt der Turgorverlust viel früher und auch deutlicher in Erscheinung.

Die Loslösung des Zytoplasmas setzt an der durchstochenen Zellwand ein. Das Plasma umgibt dabei die Stechborstenbündelspitze wie ein Handschuhfinger. Es ist stets ein Zwischenraum zwischen dem von der Zellwand losgelösten Protoplasma und der Stechborstenbündelspitze vorhanden. Dies schließt aus, daß es sich dabei nur um ein mechanisches Loslösen handelt. Die Tatsache, daß nicht durchstochene Zellen des Reizfeldes den Primäreffekt des Reblausbefalles, den Turgorverlust, ebenso erleiden wie die durchstochenen, läßt darauf schließen, daß die Erscheinung nicht oder nicht nur auf das Saugen des Insektes zurückzuführen ist. Es muß mit einer vom Insekt ausgehenden stofflichen Fernwirkung gerechnet werden.

Zunächst ist an einen osmotischen Effekt zu denken. Wenn die Reblaus mit dem Inhalt ihres Stechborstenbündels auf den Zellinhalt plasmolysierend wirkt, dann wird letzterer für die Nachbarzellen zum Plasmolytikum. Es kann aber auch sein, daß eine Permeabilitätserhöhung der Pflanzenzelle Primäreffekt des toxisch wirkenden Reblausangriffes ist und daß der permeabilitätserhöhende Stoff nach und nach in die ferneren Zellagen vordringt. Drittens ist daran zu denken, daß die Erscheinung, welche wir als Turgorverlust bezeichnen möchten, eine Folge des Präparierens sein kann. Es muß ja fixiertes und mikrotomtechnisch verarbeitetes Material untersucht werden. Dabei ist nicht ausgeschlossen, daß unter dem Einfluß eines von der Reblaus herkommenden Stoffes das Fixierungsmittel weniger schnell in die Zelle eindringt als in normale Zellen. Es muß dann das Fixierungsmittel, das ja eine recht hochkonzentrierte Lösung ist, zunächst als Plasmolytikum wirken, bevor es den Zellzustand zu fixieren imstande ist.

In allen Zellen des engeren Reizfeldes wird der Kern, der zunächst stark gefärbt erscheint, unsichtbar. Ob er einer Lyse unterliegt oder ob er vom stark farbstoffabsorbierenden Zytoplasma verdeckt wird, konnte nicht festgestellt werden.

Die primäre Phase der nekrogenen Abwehrreaktionen setzt mit dem Einstich des Stechborstenbündels in das Blattgewebe der Reben ein, wobei die durchstochenen Zellen und die Zellen des engeren Reizfeldes praemortal degenerierte und schließlich postmortal nekrotisierte Zustände aufweisen. Von den Zellen des engeren Reizfeldes werden die Zellen des noch meristematischen Mesophylls schneller und stärker von dem zur Nekrose führenden Vorgang erfaßt als die übrigen schon differenzierten Zellen.

c) Der weitere Nekrotisierungsvorgang (sekundäre Phase)

Während die Zellen des engeren Reizfeldes mehr oder weniger weit fortgeschrittene Stadien der nekrogenen Abwehrreaktionen zeigen, beginnt eine sekundäre Phase mit einer Zellvermehrung in der Umgebung der nekrotischen Zellen. Es kommt in diesen Nachbargeweben zu einer schwächeren oder stärkeren Wundreaktion mit den charakteristischen Merkmalen einer solchen. Dazu gehört insbesondere das Auftreten eines Meristems mit Teilungswänden in bestimmter Beziehung zur Wunde. Diese entstehen in der für

Wundheilungen eigentümlichen Weise periklin zur Wunde. Hier sind die nekrotischen Zellen im engeren Stichbereich als solche aufzufassen. Die Zellteilungen sind in unmittelbarer Nähe der nekrotischen Zellen besonders häufig.

Um den Nekrosefleck herum setzt in der Folgezeit eine rege Kern- und Zellteilung ein. Die Ausbildung des Wundmeristems (Abb. 12 u. 13) beginnt in den mittleren meristematischen Schichten. Die Anordnung des Wundmeristems macht den Eindruck, als ob es den nekrotischen Zellkomplex zu verkapseln und vom übrigen gesunden Gewebe abzuschließen versuche.

Zunächst bleibt die Nekrose auf die blattoberseitigen und mittleren Zellschichten des Blattes beschränkt und breitet sich dort aus. Im weiteren Verlauf werden auch die Zellen der Blattunterseite in die Nekrose mit einbezogen.

Die Reblaus befällt junge, unentwickelte Blätter. Noch in diesem Zustande der Blätter entstehen die Nekroseflecke. Mißbildungen kommen in der nachfolgenden Entwicklung aber nicht zustande, was aus folgendem zu verstehen ist. Durch das Wundmeristem und ein direktes Wachstum aus ihm heraus können mit dem weiteren Wachstum des Blattes auch die Nekroseflecke mit den übrigen intakten Geweben eine zusammenhängende Fläche bilden. Auf diese Weise kommt es nicht zu Abortionen oder zum Zerreißen der nekrotischen Gewebe.

Abb. 12 (oben). Ausbildung eines Wundmeristems unter dem nekrotischen Gewebe des Focus
Abb. 13 (unten). Ein älteres Stadium des Wundmeristems

In der Mitte der Nekroseflecke befindet sich der vollkommen nekrotische Bereich, der schon in der ersten Phase der Nekrotisierung abgestorben ist. Nach GÄUMANN (1951) nennt man diesen Teil den Focus. Bei Nekroseflecken in der Nähe der Blattnerven ist der Focus von einem mehr oder weniger nekrotisierten Gewebe umgeben. Daran schließt das Wundmeristem, das im Bereich größerer Gefäßbündel sehr stark ausgeprägt sein kann, d. h. es umfaßt eine größere Zahl von Zellagen. Bei Nekroseflecken der Interkostalfelder dagegen grenzt das Wundmeristem unmittelbar, d. h. nur mit wenigen Zellagen an das total nekrotisierte Gewebe.

Zwischen den Zellen des Wundmeristems und den Zellen des übrigen normalen Blattes beobachtet man Parenchymzellen, die in der Richtung zum Nekrosefleck gestreckt sind und abgestuft in das normale Gewebe übergehen.

Dieser Bereich der Nekroseflecke, der konzentrisch um den nekrotischen Teil des Blattgewebes gefunden wird, ist mit der Bezeichnung „Hof" nach BÖRNER und SCHILDER (1934) identisch. Die Parenchymzellen sind um den Nekrosefleck herum sternförmig angeordnet und enthalten gar keine oder nur wenige und kleine Chloroplasten. Daher erscheint dieser Blattbezirk heller als die übrigen umgebenden Blattbereiche. Infolge der unterschiedlichen Größe dieser Blattbereiche und des Grades der Ausbildung der Chloroplasten entstehen die verschiedenen Erscheinungsformen, wie sie BÖRNER und SCHILDER (1934) beschrieben haben.

Wenn das Wundmeristem seine volle Ausbildung erlangt hat, sind die Zellen des engeren Reizfeldes schon vollständig der Nekrose erlegen; das Protoplasma ist koaguliert und verklumpt. Während das fixierte Plasma in den primären praemortalen Stadien intensiv Hämatoxylin absorbiert, tritt mit der Erscheinung der Koagulation des Plasmas eine Bräunung auf, deren Farbtönung dann im weiteren Verlauf an Intensität zunimmt und zum Teil tiefschwarz wird. Der Focus fällt manchmal von der Blattoberseite zur Blattunterseite in das Gewebe ein, wodurch die Randbezirke der Nekroseflecke höher liegen. Die Zellen des Focus sind zusammengedrückt und vollkommen mit einer intensiv dunkel gefärbten Masse erfüllt.

Mit der Ausbildung des Wundmeristems ist der Nekrotisierungsvorgang nicht abgeschlossen, sondern bis zur definitiven Größe des Blattes werden immer neue Zellen in den Bereich der Nekroseflecke mit einbezogen. Es sind die Zellen, die im Wundmeristem entstehen, dann irgendwie getötet werden und den nekrotischen Zellen der Nekroseflecke die gleichmäßige Form und Struktur verleihen.

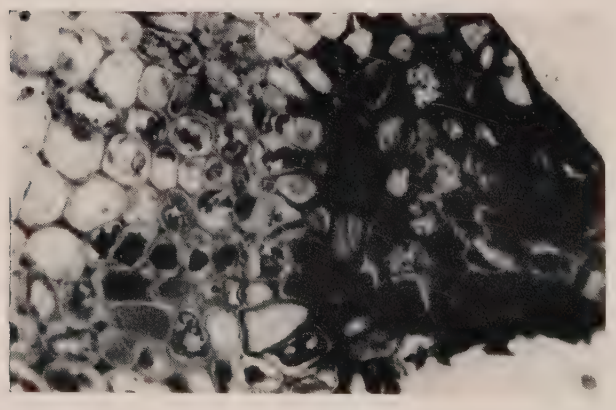

Abb. 14. Querschnitt eines Nekroseflecks im Bereich eines Nerven

Wie schon beschrieben, enthalten die abgestorbenen Zellen eine stark gefärbte Masse, die auch in den radial zum Nekrosebereich liegenden Zellwänden, welche unmittelbar auf die nekrotischen Zellen folgen, zu beobachten ist. Dabei haben die Zellwände ihren ursprünglichen tangentialen Zusammenhang an der der Nekrose zugewandten Seite verloren. Man hat den Eindruck, daß hier eine Substanz gebildet wird, die die Mittellamellen auflöst und sich als stärker färbbare Masse in den Zellwänden oder in den entstehenden Interzellularen ausbreitet (Abb. 14). Erscheinungen, wie sie an den Zellen der Nekroseflecke als prae- und postmortal festzustellen sind, können in den an die Nekrose grenzenden

Zellen jedoch erst wahrgenommen werden, wenn sie etwa zu drei Viertel von der stärker färbbaren Substanz umgeben sind (Abb. 14 Mitte). Aus diesen Beobachtungen ist zu schließen, daß die nekrotisierenden Stoffe der sekundären Phase nur minimal diffusibel sind. Eine vom primären Nekroseherd ausgehende und fortschreitende hydrolysierende Tendenz scheint die eigentliche Ursache der nekrotisierenden Vorgänge in den Zellen zu sein, wodurch in der sekundären Phase weitere Zellen von der Nekrose erfaßt und in den Nekrosebereich mit einbezogen werden können. Durch diesen sekundären nekrogenen Vorgang werden also immer wieder neue Zellen in den Bereich der Nekroseflecke mit einbezogen, und der Nekrosefleck gewinnt immer mehr an Größe und Ausdehnung.

Im Bereich größerer Blattnerven entwickelt sich das Wundmeristem zu bedeutender Dicke. Nur in ganz seltenen Fällen wird auch das Gewebe des Gefäßbündels erster oder zweiter Ordnung von einer Nekrose erfaßt. Im allgemeinen werden die größeren Gefäßbündel infolge der stärkeren Ausbildung des Wundmeristems vor einer Nekrose bewahrt. Wird allerdings auch das Gewebe eines Gefäßbündels von der Nekrotisierung erfaßt, dann ist auch hier die Nekrose eine totale, wie wir es besonders bei den Gefäßbündeln dritter Ordnung häufig beobachten konnten. Die größte und längste Ausdehnung haben die Nekroseflecke dann entlang der Nerven. Auf diese Weise entsteht die gezackte Form der Nekroseflecke (Börner und Schilder 1934). In solchen Fällen greifen die nekrogenen Vorgänge über das Gebiet der Blattnerven hinaus und erfassen auch die Blattlamina.

Das gesamte Gewebe einer alten Nekrose ist aus ziemlich gleichförmigen Zellen aufgebaut. Die Ursache dieser Erscheinung wurde schon beschrieben. Solche Zellen lassen keinerlei Differenzierung erkennen. Ihr Lumen wird homogen von gelben bzw. braunen bis schwarzen Stoffen ausgefüllt. Einige Zellkomplexe zeigen dabei starke Lyseerscheinungen.

E. Die Vergallung an den Wurzelspitzen (Nodositätenbildung) von *Vitis vinifera* var. Gutedel

a) Zur normalen Histologie der Wurzelspitzen

Im Vergleich zu den Amerikanerreben ist das Wurzelsystem der Europäerreben bedeutend spärlicher ausgebildet. Die Wurzeln der Amerikanerreben sind schnellwüchsiger und dünner. Dagegen wachsen die Wurzeln der Europäerreben langsamer, wobei sie dicker und massiger werden.

Was im folgenden Wurzelspitze genannt wird, erstreckt sich über einen Bereich von 2 bis 5 mm und umfaßt den Vegetationskegel mit dem übrigen meristematischen Bezirk und die Kalyptra, die sich mit einer Zellschicht noch bis zur folgenden Streckungszone hinziehen kann. Die primäre Rinde nimmt

im Querschnitt bedeutend mehr Raum ein als der Zentralzylinder. Die Differenzierung setzt schon früh ein. Dieses ist anzunehmen, weil folgende hier spezifische Merkmale der Endodermis in der Wurzelspitze in der Nähe des Vegetationskegels festzustellen sind: In den Endodermiszellen erscheinen im inneren Material granuläre Inhaltsstoffe, die bei der mikroskopischen Beobachtung eine starkere Lichtbrechung hervorrufen. Diese körnigen Einlagerungen oder Ausfällungen sind von brauner Farbe und absorbieren kein Hämatoxylin. Es handelt sich dabei wahrscheinlich um Gerbstoffe, Oxalsäure oder um Silberin.

Die Streckungszone beschränkt sich nur auf einen kurzen Abschnitt der Wurzel. Die Zellelemente der Wurzel erfahren hier eine Längsstreckung. Die Ausbildung der leitenden Zellelemente findet in der Übergangszone vom Streckungsbereich zur Absorptionszone statt.

Die Ausfällung von Kalziumoxalat in den Zellen beginnt schon in dem Bereich der Wurzelspitze dort, wo sich die Endodermis ebenfalls auszubilden beginnt. Diese Zellen enthalten Kristalldrusen und zeichnen sich durch ihre enorme Größe aus. Sie liegen parallel zur Längsachse der Wurzel in langen Zellreihen zusammen und sind regelmäßig um den Zentralzylinder angeordnet.

b) Der Einstich und die ersten Reaktionen der Wurzelspitzen

Die Reblaus sticht an den jungen Wurzeln in die Nähe der meristematischen Wurzelspitze ein. Besonders häufig erfolgt der Einstich in dem Übergangsbereich vom Meristem zum Bereich der Streckungszone (Cornu 1873, Mollenhauer 1888, Petri 1907). Sie bevorzugt also die von Protoplasma vollkommen ausgefüllten Zellen von embryonalem meristematischen Gewebe (s. Rübsaamen). Jedoch schließt diese Beobachtung nicht aus, daß die Reblaus auch in die anderen Regionen der Wurzelspitze einstechen kann. Erfolgt der Einstich frontal in die Wurzelspitze, also in Richtung der Längsachse der Wurzel, dann kommt es bei der nachfolgenden Verquellung zu einer nahezu vollkommenen Umwallung der Parasiten (Cornu 1873). Diese Nodositäten sind durch ihre stumpfe, kolbenförmige Gestalt charakterisiert.

Im allgemeinen durchsticht die Reblaus mit ihrem Stechbeorganapparat die Zellen der Kalyptra der Rhizosphäre und erreicht meistens die dritte bis vierte Zellage des Wurzelgewebes. Vereinzelt kommen auch Einstiche bis in die siebente oder achte Zellage vor, besonders in der Absorptionszone. In diesem Bereich kann man häufig verlassene Stechkanalspuren beobachten, die beweisen, daß zwar die Läuse auch hier einstechen, diese Stellen jedoch schnell wieder verlassen, da hier die Verquellungsreaktion zu langsam erfolgt. Vasiliev konnte Zwergläuse (1941) auch bei verschiedenen anderen Verquellungen beobachten.

Auch bei der Nodositätenbildung bildet sich sofort nach dem Eindringen des Stechborstenbündels der Laus in das Wurzelgewebe eine Stichkanalspur aus (Abb. 18), wie sie u. a. Cosens (1873) und Perez (1907) schon beschrieben haben. Es treten dabei auch dieselben Erscheinungen auf, wie wir sie schon im Falle der Gallenbildung am Blatt beschrieben haben. Beim Einstich durch eine mehrzellschichtige Kalyptra konnte ebenfalls die Stichkanalspur verfolgt und der sogenannte Einstichkragen gefunden werden.

Schon nach einem 24-stündigen Saugen der Reblaus ist am Längsschnittbild zu beobachten, daß sich unterhalb der saugenden Laus eine flache Mulde gebildet hat und daß sich die Wurzelspitze nach der befallenen Seite hin krümmt (Abb. 16). Die Krümmung resultiert aus mehreren Faktoren, wie wir sie weiter unten noch einzeln behandeln werden.

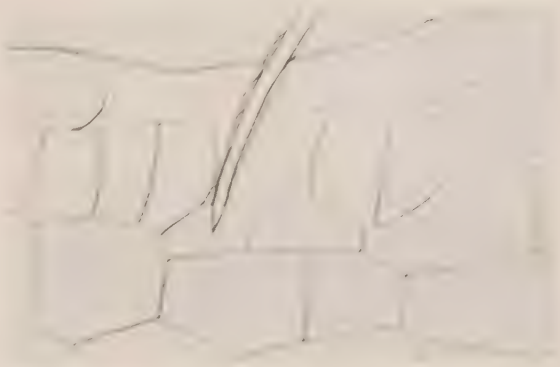

Abb. 15. Schematische Zeichnung eines Wurzellängsschnittes 24 Stunden nach dem Einstich, mit Einstichkragen und der uhrglasförmigen Eindellung der Zell-

Abb. 16. Schematische Übersichtszeichnung eines Längsschnittes einer 24stündigen Nodosität

Wie auf der schematischen Zeichnung der Abb. 15 zu sehen ist, sticht die Reblaus an der Wurzel ohne Rücksicht auf die Lage der Zellen durch sie hindurch. Dabei werden die durchstochenen Zellen deformiert, sie verlieren ihren Turgor. Die Zellwände der kollabierten Zellen können sich dicht an das Stechborstenbündel legen, so daß [illegible] vorgetrieben wird, der Stichkanal ginge durch Interzellularen. Während bei den umgebenden Zellen das Plasma das Zellumen homogen ausfüllt, zeigt der Inhalt der durchstochenen Zellen eine körnig-klumpige Struktur, und die Zellwände weisen mehr oder weniger starke Anlagerungen auf. In einzelnen Zellen waren Gerbstoffe angereichert. Auch hier ist es charakteristisch, daß die Gerbstoffe in den durchstochenen Zellen gleichmäßig verteilt sind, während die Gerbstoffe der nicht unmittelbar geschädigten Zellen granular ausfallen.

Die Zellen, die den Einstich umgeben, behalten bei der Bildung der Nodositäten den Charakter längere Zeit bei, bis sie zum Zerplatzen der

Einstiches hatten, d. h., erfolgte der Einstich in die Wurzelspitze in der Nähe des Vegetationskegels, so behielten die den Stichkanal umgebenden Zellen meristematischen Charakter. Dagegen sind oder bleiben sie weniger oder mehr vakuolisierte Parenchymzellen, wenn der Einstich in geringerer oder größerer Entfernung von der Wurzelspitze stattfand.

Bei der Gallenbildung erfahren die den Stichkanal umgebenden Zellen eine Wachstumshemmung, und das weiter abgelegene Rindenparenchym hypertrophiert (BEYERINCK 1882). Die Hemmung im engeren Reizfeld ist jedoch keine totale Wachstumshemmung; denn es findet hier ein — wenn auch stark gehemmtes — Wachstum in der Längsrichtung statt. Im Laufe der Gallenentwicklung treten in den Zellen des engeren Reizfeldes reichlich ergastische Gebilde auf, so daß alle Zellen im Stichbereich mit körnigen Inhaltskörpern ausgefüllt sind.

Messungen der Zellkerne haben ergeben, daß ihre Größen sich im Stichbereich und auch in der ihm gegenüberliegenden Wurzelseite zu den Zellkernen des Vegetationskegels wie 5 : 6 bis 5 : 7 verhalten. Die Zellkerne in diesen Bereichen sind also kleiner.

Schon nach einer 24stündigen Saugtätigkeit und Gallentwicklung konnten wir im Reizfeld des Stichkanals an der deutlich sichtbar ausdifferenzierten Endodermis Veränderungen feststellen (Abb. 17 u. 18). CORNU (1873) berichtete nur, daß sich die Endodermis verändert, doch gab er keine genauere Beschreibung derselben. PETRI (1907) berichtete, daß eine regelrechte Ausdifferenzierung der Endodermis durch den Reblausstich verhindert war.

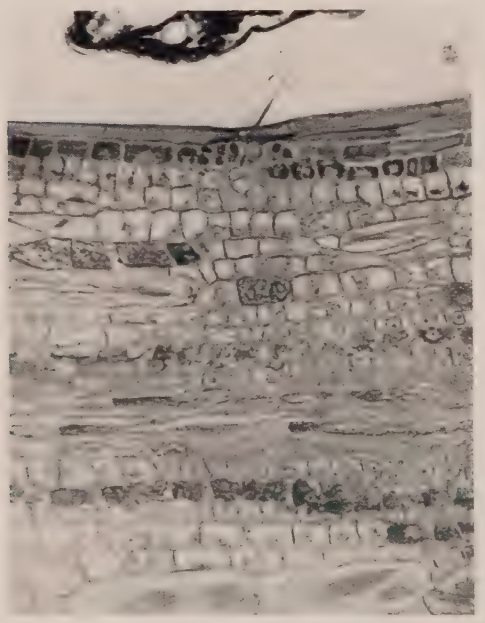

Abb. 17. Längsschnitt einer 24stündigen Nodosität mit eingestochenem Stechborstenbündel. Endodermis der stichzugewandten Seite mit weniger Inhaltsstoffen

Während die Zellen der normalen Endodermis starke Einlagerungen chemisch nicht näher identifizierter Stoffe aufweisen können, scheinen die besonderen Inhaltsstoffe der Endodermiszellen im Reizfeld bereits nach den ersten Stunden des Saugaktes einer Veränderung unterworfen zu sein. Für die Wahrscheinlichkeit dieser Vermutung spricht auch die Beobachtung, daß, wenn der Insektenstich weiter sproßwärts erfolgte — also an jenen Teilen der Wurzel, an denen beim Beginn des Saugaktes

der Reblaus die Endodermis vollkommen ausgebildet war —, dieselben Beobachtungen zu machen sind, wie wir sie folgend beschreiben. Sehr augenscheinlich wird diese Vermutung beim Vergleich mit den Endodermiszellen der stichabgewandten Seite der Wurzel. Hier haben sich die Inhaltsstoffe in ziemlich großen, tropfigen Zusammenballungen abgeschieden.

Van Wisselingh (1926) erhielt nach Behandlung von Wurzelquerschnitten mit Kaliumchlorat und Salpetersäure kugelige Abscheidungen in den Endodermiszellen mit stärkerem Lichtbrechungsvermögen. Es liegt also die Vermutung nahe, daß diese Stoffe mit jenen identisch sind und daß es sich auch in unserem Fall um künstliche Fixierungsprodukte handelt.

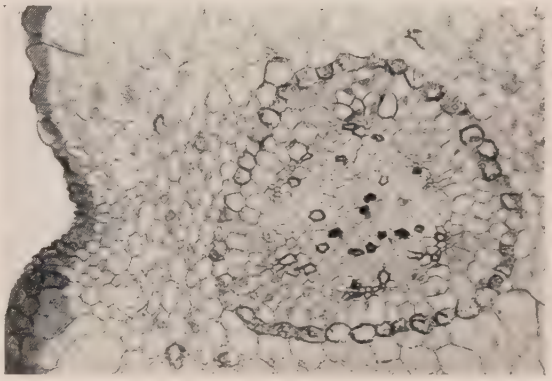

Abb. 18. Querschnitt einer viertägigen Nodosität

Sie füllen, wie es auch im Meristem sein kann, das gesamte Zellumen aus, während sie in den spitzenferneren Wurzelabschnitten nur locker in den Zellen suspendiert und schließlich als Wandablagerungen in Form von Lamellen zu sehen sind.

Erfolgte der Einstich weiter an der Spitze, dann konnten wir beobachten, daß eine Anlagerung dieser Inhaltsstoffe nicht erfolgte. Es wurde dann die regelrechte Ausdifferenzierung der Endodermiszellen durch den Stich des Parasiten verhindert. Dagegen bildet sich die Endodermis der stichabgewandten Seite normal aus (Abb. 19).

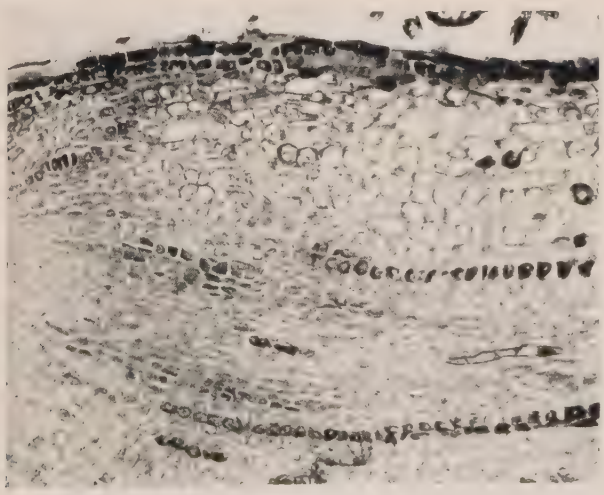

Abb. 19. Längsschnitt durch eine junge Nodosität. Auf der stichabgewandten und sich der Einstichseite zukrümmenden Wurzelspitze fortgeschrittenere Stadien der Einlagerung von Inhaltsstoffen in die Endodermis

Interessant waren Veränderungen an Wurzeln, die von mehreren Läusen angestochen waren. Die Abb. 20 und 21 zeigen Nodositätenlängsschnitte in Umrißzeichnungen, die durch den Befall mehrerer Wurzelläuse hervorgerufen wurden. In den Bildern ist die Beeinflussung

der Endodermiszellen durch die Reblausstiche drastisch dargestellt. Immer sind im Reizfeld der Reblaus die Inhaltsstoffe der Endodermiszellen in geringerer Zahl und Größe vorhanden als in den gegenüberliegenden und in der Längsrichtung der Wurzel weiter abgelegenen Endodermiszellen.

Abb. 20. Schematische Zeichnung einer Wurzelgalle, die von mehreren Reblausen angestochen ist

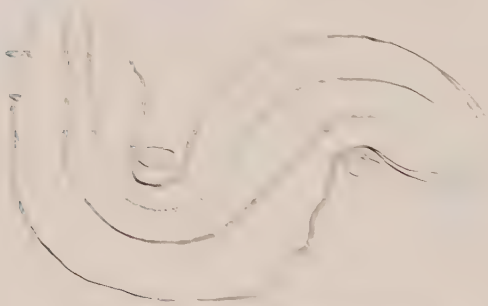

Abb. 21. Siehe Erklärung Abb. 20

Im Zentralzylinder konnten 24 Stunden nach Beginn des Saugaktes der Reblaus keine wesentlichen Veränderungen wahrgenommen werden, obwohl der vom Insekt ausgehende Reiz schon zum Zentralzylinder gelangt sein mußte.

c) Die weitere Entwicklung der Nodositäten

Ungefähr 30 Stunden nach dem Reblausstich beginnt in einiger Entfernung vom engeren Reizfeld ein Hypertrophieren der Zellen des Rindenparenchyms. Die Rindenzellen der stichabgewandten Seite strecken sich nach allen Richtungen. Das Streckungswachstum der Zellen beginnt zunächst mit einer Hypertrophie in radialer Richtung (Abb. 22, 23). Das Streckungswachstum der Zellen in der Längsrichtung der Wurzel setzt erst später ein. Ein radiales Strecken der Zellen als Folge traumatischer Reize wurde u. a. auch von SPALDING (1896) und DRAYTON (1927) beobachtet. Außerdem haben es CHOLODNY (1931) und DRAWERT (1937) nach Behandlung von Keimwurzeln

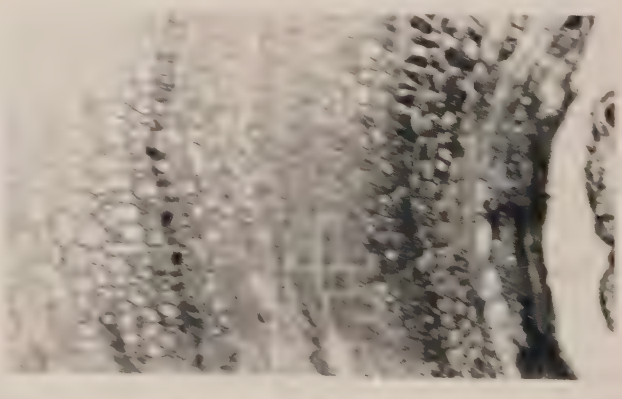

Abb. 22. Längsschnitt einer jungen Nodosität; radiale Streckung der Rindenzellen auf der stichabgewandten Seite

mit Wuchsstoffen gesehen. Das radiale Strecken der Zellen des Rindenparenchyms machen auch die Zellen der Rhizodermis mit.

Diese hypertrophierenden Rindenzellen vakuolisieren sehr stark und erlangen in der weiteren Entwicklung der Nodositäten ein schwammiges Aussehen (CORNU 1873).

Im weiteren Verlauf der Gallenentwicklung kommt es zu einer Krümmung der Wurzelspitze, wie man sie schon in den jüngsten Stadien der Nodositätengenese beobachten kann. Nach drei Tagen kann die Wurzel schon eine Krümmung von 15 bis 30° haben, und vier bis fünf Tage nach dem Einstich kann die Krümmung schon 60 bis 90° betragen (Abbild. 24). Bei ausgebildeten Nodositäten kommen Krümmungen bis 180° vor, so daß die Laus wie in einer Höhle zu sitzen scheint.

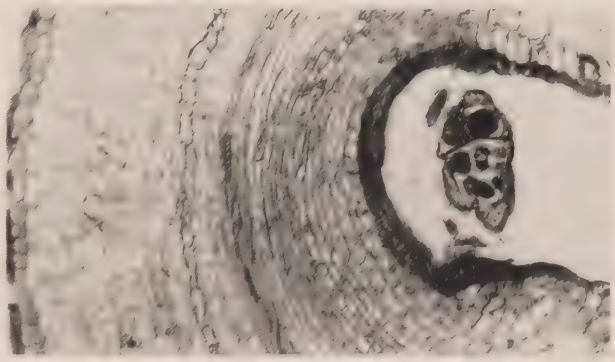

Abb. 23. Längsschnitt durch eine ausgebildete Nodosität. Beachte hier das schwammige Aussehen der Gallenzellen und die Endodermis der stichabgewandten Seite, die vollkommen ausgebildet ist

Die Krümmung der Wurzelspitze ist nicht nur auf einen traumatischen Reiz zurückzuführen, sondern beruht auf der Wachstumshemmung des Gewebes im engeren Reizfeld und einem allseitigen Streckungswachstum der Zellen in den Geweben, die um das engere Reizfeld herum liegen.

Abb. 25 zeigt recht deutlich, daß das Verdicken der Wurzel lediglich auf das Hypertrophieren der Rindenzellen zurückzuführen ist. Die Zahl der Zellschichten bleibt konstant. Zellteilungen konnten häufig im Vegetationskegel und nur ganz vereinzelt im Perizykel beobachtet werden.

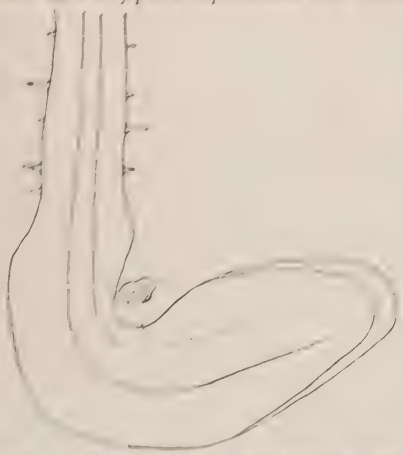

Abb. 24. Schematische Zeichnung eines Wurzellängsschnittes einer fünftägigen Nodosität

Während der Entwicklung der Nodositäten sind im Vegetationskegel der Wurzel auf der Seite des Reblausbefalles (Einstichseite) weniger Zellteilungen als auf der gegenüberliegenden, unbefallenen Seite. Der Befall an einer mehr sproßwärts gelegenen Stelle bewirkt also nicht nur die Hemmung des Streckungswachstums im Parenchym der Einstichstelle und die Hypertrophie im gegenüber und sproßwärts gelegenen Gewebe, sondern beeinflußt auch die Zellteilungs-

rate im weiter entfernt liegenden Meristem der Wurzel. Ob dabei die Zellteilungen im Meristem der Einstichseite gehemmt oder die im Meristem der gegenüberliegenden Seite gefördert wird, oder ob beides geschieht, kann nicht gesagt werden. Man erkennt lediglich den Unterschied. Das unterschiedliche Teilungswachstum in den Meristemen der gegenüberliegenden Flanken der Wurzeln mag ein zusätzlicher Faktor der Wurzelkrümmung sein.

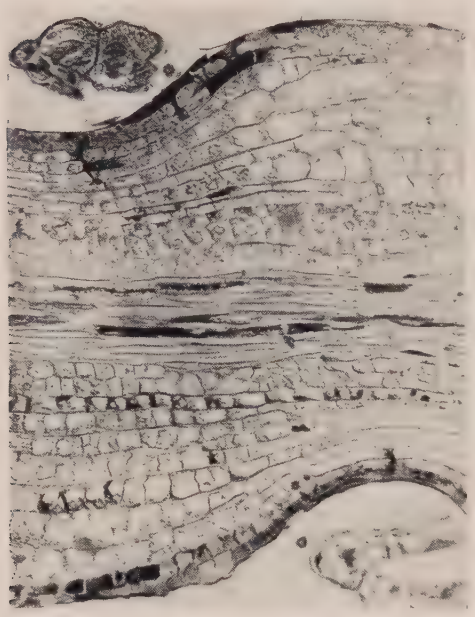

Abb. 25. Längsschnitt durch zwei Stichstellen. Hemmzonen des engeren Reizfeldes und die entfernteren Zonen des hypertrophen Wachstums

Etwa drei Tage nach einer Reblausinfektion treten ergastische Ablagerungen in den Zellen des wachstumsgehemmten Wurzelbereiches des engeren Reizfeldes auf. In den anschließenden Parenchymzellen des weiteren Reizfeldes, also im Übergangsbereich zu den hypertrophierenden Geweben, findet eine deutlich sichtbare Stärkeschoppung statt. Die Stärkeschoppung zeigt sich konzentrisch um das engere Reizfeld, d. h. um den Einstich herum. Die Stärke ist hier dicht gelagert, während die hypertrophierten Zellen weniger Stärke enthalten. Die Stärke im Stichbereich besteht aus einfachen und zusammengesetzten Stärkekörnern und ist bedeutend grobkörniger als die wenigen Stärkekörner, die in den hypertrophierten Zellen abgelagert werden (CORNU 1873). Die Stärkekörner, die am nächsten zum Stichkanal liegen, zeichnen sich ebenfalls durch besondere Kleinkörnigkeit aus. Außerdem sind sie nur in einer bestimmten Entfernung vom Einstichkanal zu finden (CORNU 1873, PETRI 1907, STERLING 1952). COSENS (1912) und MAGNUS (1914) bringen diese Erscheinungen der Gallen in Beziehung zu diastatischen Enzymen, die von den gallenbildenden Insekten abgeschieden werden sollen. CORNU (1873) bezeichnet die Stärkeschoppungen als Stärkereservoire in den Nodositäten. Es sind zweifellos pathologisch bedingte Stärkeschoppungen, wie sie in ähnlichen Fällen häufig zu finden sind und deren Ursachen und Zweckmäßigkeit noch unbekannt blieben (WARTENBERG 1954).

Bei weiter sproßwärts stattfindendem Reblausbefall werden bis zur Zone der Wurzelbehaarung noch Nodositäten entwickelt. Je weiter der Befall von der Wurzelspitze entfernt ist, desto stärker treten Hemmungserscheinungen in der Befallszone auf. Die Wurzelspitze kann dann normal weiter wachsen, es braucht nicht zu einer Wachstumshemmung der ganzen Wurzel zu kommen. Wird die Wurzel von mehreren Läusen besogen, die auf verschiedenen Seiten der Wurzel eingestochen haben, so kommt es dennoch zu einem weiteren

Wachstum in der Längsrichtung (Abb. 20). Dieses Längenwachstum ist jedoch durch die Summe der Einzelhemmungen verzögert. Die Krümmung der Wurzelspitze ist von der Laus abhängig, die der Wurzelspitze am nächsten sitzt (Abb. 21).

Die Zellen im engeren Reizfeld haben dicke Wandanlagerungen. PETRI (1909) spricht davon, daß als Folgeerscheinung des Reblausstiches in den tieferen Schichten des Parenchyms Kallose in Form von Wandbelägen oder unregelmäßigen Wandverdickungen ausgeschieden wird, die in späteren Stadien eine kaffeebraune Farbe annimmt. Nach PETRI (1909) ist dies ein Zeichen langsamen Absterbens der Zellen. Dagegen sind die Zellwände der hypertrophierten Zellen des Gallengewebes dünnwandig und besitzen große Vakuolen. Das Gallengewebe wird von großen Interzellularen durchzogen. Die Zellen des engeren Reizfeldes werden im Laufe der Nodositätenbildung durch das Hypertrophieren der umliegenden Zellen radial zusammengedrückt. Die Zellelemente des Zentralzylinders erfahren im Bereich und auf der Seite des engeren Reizfeldes eine Wachstumsbehinderung und auf der gegenüberliegenden Seite eine Zellstreckung. Die Zellstreckung auf der stichabgewandten Seite geschieht nicht im Sinne einer Prosenchymbildung nur in der Längsrichtung des Organs, sondern in allen Richtungen des Raumes, soweit dies durch die Zwangslage der Zelle am Gewebe überhaupt möglich ist. Jedenfalls ist das Ergebnis des unter einem Reiz erfolgten Streckungswachstums ein voluminöserer, aber im Gegensatz zum Prosenchym in den Proportionen kürzerer und dickerer Zelltyp. Außerdem sind die stoffleitenden Zellelemente nur schwach ausdifferenziert.

Die Kerne in den Zellen der stichabgewandten Seite nehmen weniger Farbstoff auf als die Kerne der Zellen des Meristems und des Parenchyms im engeren Reizfeld. CHOLODNY (1931) deutet die verschiedene Farbstoffaufnahme der durch Wuchsstoff zum Hypertrophieren veranlaßten Zellen als eine Protoplasmaänderung.

Im weiteren Verlauf der Vergallung ist nun ein fortschreitendes Hypertrophieren der das Reizfeld umgebenden Zellen zu beobachten, und ungefähr nach 14 Tagen ist die Nodosität vollkommen ausgebildet. Nach etwa drei bis vier Wochen erliegt sie Fäulnisprozessen, wie sie PETRI (1909) ausführlich beschrieben hat.

Sobald die Nodosität eine Krümmung von über 45 ° erreicht hat, können in der Zone der stärksten Krümmung im stichabgewandten Perizykel des Zentralzylinders zahlreiche Kern- und Zellteilungen auftreten. Im weiteren Verlauf des Geschehens bilden sich hier Nebenwurzeln (CORNU 1873).

F. Die Vergallung an den verholzten Wurzeln (Tuberositätenbildung) von *Vitis vinifera* var. Gutedel

a) Zur normalen Histologie der verholzten zweijährigen Wurzel

Befällt die „Wurzelgeneration" der Rebläuse verholzende oder verholzte Wurzeln der Reben, dann entstehen dort knotige Anschwellungen, die durch

das andauernde Parasitieren der Insekten an jenen Stellen hervorgerufen werden. Nach MILLARDET (1889) bezeichnet man diese Art von Wurzelgallen der Reben als Tuberositäten.

Unsere Studien machten wir im wesentlichen an Tuberositäten zweijähriger Wurzeln, somit nach einer Einteilung von PETRI (1907) an subepidermalen Tuberositäten zweiter Ordnung. In einigen Fällen beschreiben wir vergleichenderweise auch einige Beobachtungen an einjährigen Wurzeln.

Die zweijährige *Vitis*-Wurzel hat als Abschlußgewebe ein Periderm, welches mit mehreren Lagen von Korkzellen die gesamte Wurzel umschließt.

Im Vergleich der Wurzelquerschnitte von Europäer- und Amerikanerreben konnte festgestellt und dadurch die Beobachtungen von FOEX (1876) bestätigt werden, daß sich die Wurzeln der Europäerrebe durch breitere Markstrahlen deutlich von den Wurzeln der Amerikanerrebe unterscheiden (insbesondere von *Vitis riparia* — FOEX 1876). FOEX glaubt mit dieser Beobachtung die intensivere Zerstörung der Europäerrebe durch den Reblausbefall begründen zu können, da die Störungen der Europäerrebe tiefer in den Holzkörper eingreifen und so die gesunde Entwicklung der Europäerrebe verhindern würden.

Außerdem besitzen die Wurzeln der Europäerreben im Vergleich zu den Amerikanerreben *Vitis riparia* × *rupestris* C. 3309 und *Vitis riparia pubescens* var. Klosterneuburg ein bedeutend dickeres Rindenparenchym. Der Hartbast ist noch nicht ausgebildet und nur durch eine schwache Verstärkung der Zellwände der äußeren Zellelemente des Siebteiles zu erkennen. Das Kambium wird in allen normalen Wurzeln nur aus zwei bis drei Zellschichten gebildet. Die sekundären Markstrahlen werden erst in diesem Wurzelstadium angelegt. Während der ganzen Vegetationsperiode konnten Stärkeablagerungen in den Parenchymen des gesamten Wurzelquerschnittes festgestellt werden.

b) Der Einstich und die ersten Reaktionen der verholzten Wurzeln

Erst zehn Tage nach der Infektion der Reben mit Rebläusen, deren Methode oben schon beschrieben wurde, war an den verholzten Wurzeln der Befall mit Rebläusen festzustellen. Während die Nodositäten zum größten Teil auch von einzelnen Läusen hervorgerufen werden, sind bei der Tuberositätenbildung fast ausnahmslos mehrere Läuse beteiligt, die in kleineren Kolonien angreifen. Bevorzugte Stichstellen der Insekten waren die Teile der Wurzel, die dem Altholz des Rebenstecklings am nächsten waren. Es sind also nicht die jüngsten verholzten Teile der Wurzel, sondern die älteren, an denen sich die Rebläuse gern festsetzen und die Tuberositätenbildung veranlassen.

Die Einstiche der Rebläuse zeigen auch an den verholzten Wurzeln dieselben Erscheinungen, wie sie schon bei der Nodositätenbildung beschrieben wurden. Nur kommt es hier bei diesem ausdifferenzierten Rindenparenchym

nicht zu Zellschrumpfungen wie bei den übrigen Vergallungen. Die Erscheinung des Eindrückens der Zellwände in die durchstochenen Zellen hinein tritt bei der Tuberositätenbildung, also bei der Vergallung bereits verholzter Wurzeln, nur bei der durchstochenen Zelle des Korkkambiums auf (Abb. 26).

Der Einstich reicht meist bis zur vierten bis sechsten Zellschicht des Rindenparenchyms (Abb. 26). Doch wurden auch Einstiche beobachtet, die bis in die neunte Zellage des Rindenparenchyms gelangt waren. Das Stechborstenbündel erreichte diese Stichtiefe bei einjährigen Wurzeln. Hier erreicht es fast das Kambium, und in diesen Fällen kommt es dann zu Erscheinungen, wie sie weiter unten noch näher beschrieben werden.

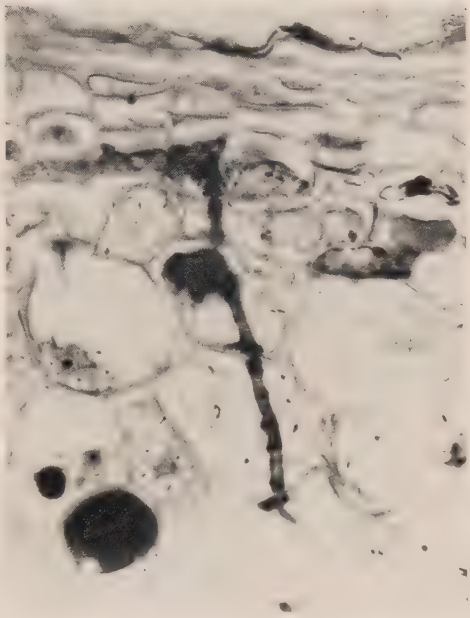

Abb. 26. Wurzelquerschnitt mit Teilansicht einer Stichkanalspur. Durchstochene Phellogenzelle mit eingedrückten Seitenwänden

In den Einstichen erfolgt gleichfalls die Ausbildung einer Stichkanalspur. Die Stichkanalspur war auch in den äußeren, verkorkten und inhaltsarmen Zellen des Periderms zu finden. Da diese keinen lebenden Zellinhalt haben, ist zu schließen, daß die Substanz, die die Stichkanalspur bildet, vom Insekt und nicht von der befallenen Zelle stammt (vgl. WARTENBERG 1954).

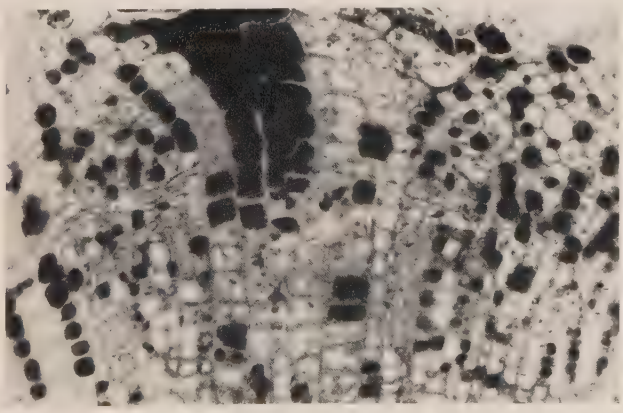

Abb. 27. Teilansicht eines Wurzelquerschnittes durch eine junge Tuberosität. Verstärkte Teilung des interfaszikulären Kambiums und der angrenzenden Bezirke des faszikulären Kambiums. Dunkel gefärbte Zellen enthalten Gerbstoffe

Im Bereich des Einstiches erfolgen stärkere Ablagerungen von Gerbstoffen, die eine genauere Untersuchung der Stichkanalspur sehr erschweren können.

Erst ungefähr 15 Tage nach der Infektion der Rebenwurzeln mit Rebläusen erscheinen im mikroskopischen Bilde die ersten pathologischen Reaktionen des Wurzelgewebes, die dann zu der Tuberositätenbildung führen.

Die Reizwirkung des Insektenstiches an den verholzten zweijährigen Wurzeln trifft primär das interfaszikuläre Kambium, welches mit einer schnelleren Zellteilungsfolge antwortet (Abb. 27). So kommt es zu einer verstärkten Zellabgabe sowohl nach innen an den Markstrahl als nach außen an das Rindenparenchym. Die nach innen an den Markstrahl abgegebenen Zellen erfahren nicht so schnell eine Streckung in radialer Richtung wie in normalen Wurzeln (HABERLANDT 1918), sondern behalten ihre Zellform längere Zeit bei; d. h. sie liegen einige Zeit mit ihrer längeren Achse parallel zum Kambium. Eine weitere Differenzierung der Zellen findet nicht statt, sie bleiben in dem durch die Streckung erreichten parenchymatischen Zustand.

Eine vermehrte Zellteilung kommt infolge des Reblausbefalles auch in dem angrenzenden faszikulären Kambium zustande. Der Reiz bewirkt dieses, wie schon gesagt, zunächst im interfaszikulären Kambium und dann in den tangential angrenzenden Teilen des faszikulären Kambiums, während das übrige Kambium im Innern des Gefäßbündels normalen Charakter behält, offenbar vom Vergallungsreiz nicht so leicht getroffen wird. Das kambiale Gewebe kann im Bereich des Reizfeldes bis acht Zellagen erreichen, während das Kambium normaler Wurzelteile nur zwei bis drei Zellagen aufweist.

Anders verhält sich jedoch das faszikuläre Kambium vergleichsweise bei einjährigen, von Rebläusen befallenen Wurzeln, bei denen der Einstich bis in die Nähe des Kambiums erfolgte. Hier tritt im Zusammenhang mit dem Reblausbefall eine starke Zellteilung sowohl im interfaszikulären als auch im gesamten faszikulären Kambium des Stichbereiches auf. Ferner war hier die Erscheinung zu beobachten, daß die nach innen abgeschiedenen Zellelemente nicht normal ausdifferenziert wurden (PETRI 1907); d. h. die xylemwärts abgeschiedenen Zellelemente verholzten nicht, sondern entwickelten sich zu typischen Parenchymzellen (vgl. WARTENBERG 1954). Dieses pathologische Ausbleiben der Differenzierung zum Xylem ist auch an zweijährigen Wurzeln, jedoch nicht in diesem Ausmaße zu beobachten. Besonders eindrucksvoll macht es sich an Wurzeln bemerkbar, welche von mehreren Läusen besogen wurden.

Der Hyperplasie in den kambialen Zellelementen folgt also xylemwärts und auch phloemwärts ein raumgreifendes Wachstum von Parenchym. Es kommt folglich so zu einer zentrifugalen Verlagerung des interfaszikulären Kambiums und zu einer Hervorwölbung des Rindenparenchyms, das sich zunächst in einer starken Pressung der äußeren Korkzellen äußert und dann im weiteren Verlauf der Tuberositätenbildung zur Sprengung des äußersten Korkmantels und zur Bildung der tumorösen offenen Galle führt.

21 Tage nach der Infektion konnte auch eine deutliche Vermehrung der Rindenparenchymzellen beobachtet und nach 35 Tagen konnte die Tuberosität als knotige Anschwellung schon makroskopisch wahrgenommen werden. Die Hyperplasie des Kambiums und vielleicht auch eine nachfolgende Hypertrophie des daraus entstehenden Parenchyms macht sich demnach als rindenwärts gerichtetes anomales Wachstum bemerkbar.

Infolge der in dieser Weise rindenwärts pathologisch bedingten Überproduktion von Parenchymzellen aus dem interfaszikulären Kambium heraus ergibt sich bei der weiteren Tuberositätenbildung eine tangentiale Pressung der Zellen des nicht unmittelbar gereizten Gewebes. Besonders sind es die Zellbezirke zwischen dem Phloem und dem Periderm, d. h. die Zellen des Rindenparenchyms, die hiervon betroffen werden. Die krankhafte Parenchymbildung der Tuberositäten erweist sich als ein richtungslos hypertrophierendes und beziehunglos gestaltetes Gallenparenchym.

Die oben beschriebene Pressung der Zellen in tangentialer Richtung bedeutet für diese Zellen eine Streckung in radialer Richtung des Wurzelquerschnittes. Diese Zellen können vollkommen zusammengedrückt werden oder enthalten starke Gerbstoffeinlagerungen.

c) Die weitere Tuberositätenbildung

Im weiteren Verlauf der Tuberositätenbildung findet in den Zellen des Rindenparenchyms, welche an die Bastkappen oder Siebteile grenzen und die zur radiären Zellstreckung veranlaßt sind, eine erneute Zellteilung mit perikliner Zellwandbildung statt. Es wird hier ein sekundäres Meristem, das Gallmeristem, gebildet, wie es schon Petri (1907) beschrieben hat. Die Abbildung 28 zeigt ein frühes Stadium der Zellpressung und Zellstreckung sowie die ersten periklinen Zellwände des entstehenden „Gallmeristems".

Die Bildung eines Folgemeristems erstreckt sich seitlich, den Bereich der Tuberosität umfassend, auch in den benachbarten Markstrahl hinein (Abb. 29).

Dieses Meristem produziert nun in der Folge zusammen mit dem hyperplastischen interfaszikulären Kambium die Zellelemente, die das Gallengewebe ausmachen. Das Gewebe der Galle, das ein „enddifferenziertes" (vgl. Wartenberg 1954), richtungslos hypertrophes Parenchym ist, entwickelt sich also aus zwei verschiedenen Meristemen heraus. Primär setzt die Gallenbildung mit einer Hyperplasie des interfaszikulären und faszikulären Kambiums ein. Hierdurch und durch eine Hypertrophie des entstehenden Parenchyms kommen unausgeglichene Gewebespannungen zustande, die zur Neubildung eines Folgemeristems im Rindenparenchym führen, das dann weiterhin hypertrophes Parenchym entwickelt.

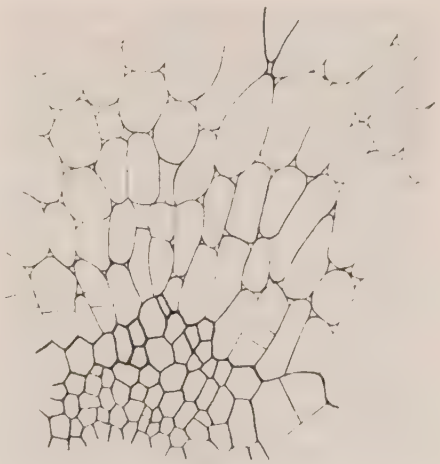

Abb. 28. Ausschnitt eines Tuberositätenquerschnittes mit einem frühen Stadium der Zellstreckung und Bildung des Gallmeristems über dem Phloem

Der Reblausreiz hat hier nur eine Wachstumssteigerung sowohl im Sinne des Teilungs- als auch des

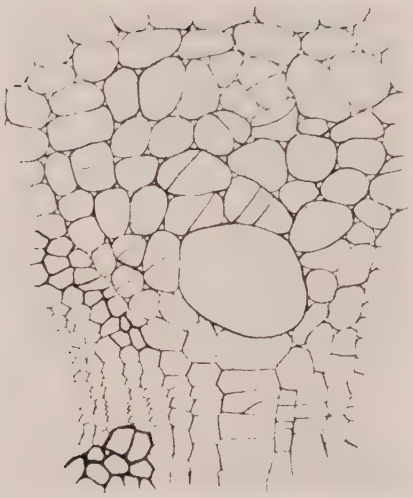

Abb. 29. Schematische Zeichnung eines Wurzelausschnittes mit dem Folgemeristem im benachbarten Markstrahl

Streckungswachstums zur Folge. Die saugenden Läuse sitzen meistens seitlich an den Tuberositäten.

Während in den normalen Teilen der Wurzeln, insbesondere im Rindenparenchym, eine gleichmäßige Ablagerung von Stärke erfolgt, enthalten die Zellen der Tuberosität weniger Stärke. Oft war ein großer Teil der Zellen des vergallten Gewebes vollkommen stärkefrei. Ebenso wie bei der Nodositätenbildung war die Stärke in der Nähe des Stichkanals kleinkörniger und nur in Zellen zu sehen, die einen gewissen Abstand vom Stichkanal hatten.

Gerbstoffablagerungen sind in der Tuberosität reichlicher zu finden als im normalen Gewebe. Sie treten besonders in zusammenhängenden Zellkomplexen auf. Besonders häufig sind diese gerbstoffhaltigen Zellbezirke unter dem Periderm, am Gallmeristem und unterhalb des Einstiches.

Im Gewebe der Tuberosität waren häufig Zellkerne mit zwei Nukleoli zu beobachten. Die einzelnen Nukleoli in den Zellen der Galle hatten die doppelte Größe gegenüber den Kernkörperchen der normalen Rindenparenchymzellen. Dies entspricht der Feststellung von STERLING (1952), daß die Nukleoli in den Zellen der nutritiven Zone bei Blattgallen der Reben größer sind als die Nukleoli anderer Zellkerne. Daß hier bei den Tuberositäten ebenfalls eine nutritive Zone vorliegt, ist in der Tatsache zu sehen, daß im Bereich des Einstiches, d. h. im engeren Reizfeld, die Zellen zum Teil vollständig von körnigen Inhaltsstoffen ausgefüllt sind. Beim Präparieren nehmen diese Zellen besonders reichlich Farbstoffe auf und erscheinen daher im mikroskopischen Bild stärker tingiert. Ein intensivere Färbung weisen auch die Zellkerne im Bereich der Galle auf.

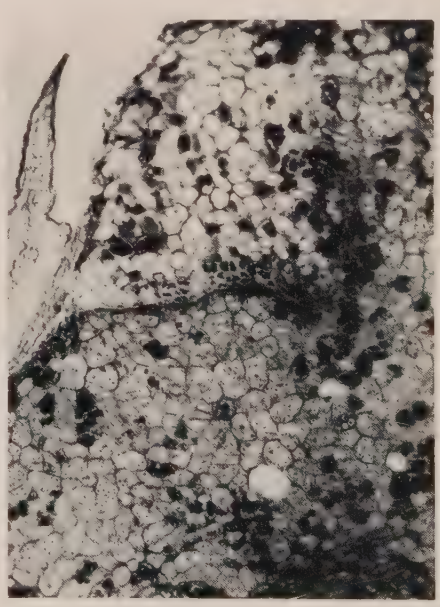

Abb. 30. Querschnitt einer alten Tuberosität. Phellem, das bis zur Mitte der Tuberosität reicht. Das Gallengewebe oberhalb des Phellems ist schon dem Fäulnisprozeß unterworfen

Die Zellvermehrung ist nicht nur eine Folge der gesteigerten Zellteilung des interfaszikulären Kambiums und des Gallmeristems, also älterer und neuerer Meristeme, sondern auch innerhalb des bereits entwickelten Gallengewebes, welches durch eine Art Dilatation aus Derivaten der genannten Meristeme und aus Elementen des ursprünglichen Rindenparenchyms zustande kam, finden immer wieder Teilungen in allen Richtungen statt.

Im Gallengewebe wird im weiteren Bildungsgang der Tuberositäten wiederum ein besonderes sekundäres Folgemeristem, und zwar im Sinne eines Trennungsgewebes entwickelt. Es hat die Tendenz, durch Bildung eines Phellems die äußere Tuberosität abzuschnüren, was aber nur mangelhaft gelingt, weil das Phellogen seitlich nicht weit genug reicht (Abb. 30).

Millardet (1889) nannte diese Art Phelleme „Verteidigungsplatten", weil sie ja mit der Tendenz, die Tuberositäten abzuschnüren, angelegt werden. Er betrachtete die Anlage dieser Verteidigungsplatten als einen Hauptgrund für die besondere Widerstandsfähigkeit der Amerikanerreben gegen die Reblaus, da sie mehrere und vollständigere solcher Verteidigungsplatten zu bilden imstande sind, die die äußere Tuberosität abschnüren und so die weiter nach innen gelegenen Gewebe vor dem Verfaulen schützen. Die Verteidigungsplatten werden in der Tuberosität angelegt und trennen rindenwärts äußere Gewebeteile von inneren Gewebeteilen der Tuberosität. Der Schutz bewirkt hier bei unserem Material kein Abstoßen der Tuberosität. Es nützt nur durch Verhindern des Eindringens der Fäulniserreger in innere Gewebeteile. Es kann weder das Entstehen der Tuberosität verhindern, noch stößt es die ganze Tuberosität ab. Hier kann nicht und soll auch nicht zu den Problemen der Millardetschen „Verteidigungsplatten" geurteilt werden. Hierzu wäre ein arten- und sortenmäßig vielseitigeres Material notwendig. Außerdem müßten unterschiedliche Wachstumsverhältnisse berücksichtigt werden.

In manchen Tuberositäten zeigt sich eine Hyperplasie und eine Hypertrophie des im Reizfeld liegenden faszikulären Kambiums in tangentialer Richtung, in deren Folge die neugebildeten Zellelemente die Zellen des benachbarten Markstrahls zusammenpressen (Abb. 31). Auch hier bilden sich die Zellelemente, welche xylemwärts abgeschieden werden, zu typischen Parenchymzellen aus, wie dies schon weiter oben beschrieben wurde. Eine Ausdifferenzierung zu Holzzellen findet nicht statt. Es ist dieselbe pathologisch bedingte Erscheinung, wie sie ausgeprägter

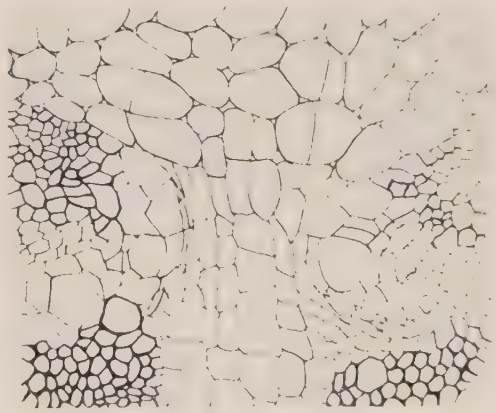

Abb. 31. Schematische Zeichnung eines Ausschnittes eines Tuberositätenquerschnittes mit stärkerer Zellbildung des faszikulären Kambiums und tangentialer Verschiebung des Phloems in den Markstrahl

bei einjährigen Wurzeln zu finden ist. Die Erscheinung, daß die vom Kambium xylemwärts abgeschiedenen Zellen nicht verholzen, sondern parenchymatisch bleiben, ist bei der Blutlausvergallung der Malusarten und -sorten besonders auffallend (WARTENBERG 1954). Die tangentiale Pressung, wie sie durch die Hyperplasie und Hypertrophie aus dem faszikulären Kambium heraus bewirkt wird, kann so stark werden, daß Parenchymzellen des Markstrahls unter der Auswirkung des Druckes absterben, was durch nekrotische Verfärbungen sichtbar wird.

Im weiteren Verlauf der Tuberositätenbildung kommt es nun zu einer enormen Zellvermehrung, und schließlich geht die Galle in Fäulnisprozesse über, wie sie PETRI (1907/09) eingehend beschrieben hat. Ob es sich dabei um eine im letzten Teil des Vergallungsprozesses funktionelle Zytolyse handelt oder ob die Vergallung eine Prädisposition für den Angriff zelltötender und Fäulnis verursachender Mikroorganismen bedeutet, kann nicht gesagt werden.

G. Besprechung der Ergebnisse

Die Bildung der Reblausgallen und die Entwicklung der Abwehrnekrosen am Blatt und an der Wurzel der Rebe sind histologisch und physiologisch nur scheinbar verschiedenartige Probleme. Sie haben im Grundsätzlichen viel Gemeinsames. Sowohl für Blattgallen und Abwehrnekrosen an Blättern als auch für Wurzelvergallungen (Nodositäten und Tuberositäten) kann man gemeinsam fragen:

1. Welche Art Gewebe sind für den Reiz der Gallenbildung und für die Entwicklung der Abwehrnekrosen besonders oder überhaupt nur empfänglich?
2. Was ist der Initialreiz und welcher Art sind die Reaktionen der Wirtspflanze auf den Reblausstich bei anfälligen (gallenbildenden) und nicht anfälligen (mit Nekrose reagierenden) Reben?

Bei der Gallenbildung an den Blättern sind die Meristeme des Mesophylls der jugendlichen Blätter diejenigen Zellen, die auf den Vergallungsreiz reagieren. Im Gegensatz zu entwickelten Parenchymzellen, die selbst dann, wenn sie angestochen oder durchstochen werden, sich verhalten, als ob nichts geschehen wäre, verlieren angestochene und durchstochene Meristemzellen den Turgor. Die erschlafften Zellen sterben*) und bilden das Zentrum einer Hemmzone; denn unter einer (wahrscheinlich toxigenen) Wirkung, die vom Stichkanal ausgeht, erfahren die nächsten umliegenden Gewebeteile eine

*) Daß die meristematischen Zellen durch den Reblausstich abgetötet werden, schließen wir aus den zytologischen Details, wie wir sie beschrieben haben. Diese Annahme bedarf allerdings noch der experimentellen Untermauerung am Frischmaterial; denn inwieweit solche Urteilsbildungen am fixierten Material erlaubt sind, bleibt dahingestellt. Nach WARTENBERG (1954) ist dieses Urteil mit einem hohen Unsicherheitsfaktor verbunden, weil immer mit einem Artefakt des Präparierens gerechnet werden muß. Unter Vorbehalt solcher Einschränkung lassen unsere Beobachtungen sowohl bei kongenialen als auch bei nicht kongenialen Reben vermuten, daß der Tod der durchstochenen Zellen nur auf eine mechanische Verwundung der Zellen durch das Stechborstenbündel zurückzuführen ist.

Wachstumshemmung. Die Zellen der weiteren Umgebung der „Saugstelle" des Insektes reagieren mit Hyperplasie und nachfolgender Hypertrophie. In dieser Art und Weise reagierende Zellen haben beim Empfang des Reizes stets meristematischen Charakter, d. h. nur Meristeme vermögen auf den Reiz des Reblausstiches zu reagieren. Infolge der Hypertrophie entstehen in den mehr oder weniger entfernt vom Reizfeld sich normal entwickelnden Parenchymen und in den entstandenen Gallenparenchymen Gewebespannungen, die zur Bildung sekundärer Meristeme, den in der Literatur besprochenen Gallplastemen, führen. Wenn also aus dem primären Meristem ein Gallenparenchym geworden ist, das als Parenchym gegen den Vergallungsreiz reaktionsunfähig geworden ist, müßte mit der Entwicklung des Blattes der Vergallungsprozeß automatisch unterbrochen werden. Durch das Entstehen der sekundären Meristeme ist aber wieder erneut ein reaktionsfähiges Zellgewebe gegeben, das mit dem Andauern des Reizes die Galle weitergestalten kann.

Ähnlich liegt der Fall bei der Entwicklung der Abwehrnekrosen des Blattes, wenn auch dieser Vorgang zu einem anderen Endeffekt führt. Hier stirbt auch die angestochene oder durchstochene Zelle. Die vom Stichkanal ausgehende (sicherlich toxische) Wirkung führt aber nicht zu Wachstumshemmungen, sondern zur Nekrose der meristematischen Zellen des engeren Reizfeldes. Darüber hinaus ist eine Hemmzone nicht zu bemerken. Unmittelbar an das primär nekrotische Gewebe anschließend, neigt das Meristem zu verstärkter Zellteilung, zur Hyperplasie (Wundmeristem?). Hierdurch ist für eine Weile das Entstehen hochempfindlicher Zellen gegeben, die bald der Nekrose verfallen und den Focus, den eigentlichen Nekrosefleck des Gebildes, sekundär erweitern. Sei es nun, daß in der Nekrose entstehende Stoffe das Insekt vergrämen und der toxische Reiz hierdurch aufhört, oder sei es, daß in einiger Entfernung vom Zentrum des Reizfeldes, sozusagen am Ende des Konzentrationsgefälles, zwangsläufig keine Nekrose, sondern nur eine mindere toxische Wirkung zustande kommen kann. Jedenfalls sieht man, am Nekrosefleck unmittelbar anschließend, den von der Vergallung bekannten Vorgang der Hypertrophie nach vorausgegangener Hyperplasie. Es bildet sich der chlorotische bis hyaline „Hof" der Nekroseflecke (Börner und Schilder 1934). In Anbetracht der Tatsache, daß es sich hier nun um parenchymatische Zellen in weitgehend hypertrophem Zustande handelt und daß Parenchyme auf Reblausstiche überhaupt nicht reagieren, ist der Hof des Nekroseflecks als eine physiologische Begrenzung der Wirkung des Reblausangriffes zu vermuten. Diese Frage muß weiter unten noch eingehender besprochen werden.

Bei der Bildung der Nodositäten an den Spitzen der jungen Wurzeln ist auch ein Meristem, eben das Entwicklungsgewebe der Wurzelspitzen, dasjenige, was von der Reblaus angegriffen wird und auch reagiert. Die angestochenen und durchstochenen Zellen verlieren in der schon besprochenen bekannten Weise den Turgor und werden um den Stichkanal herum, wahrscheinlich leblos, zusammengedrückt. Hier erzielt der Reblausstich bzw. der

Saugakt des Insektes dann weiter in einem mehr oder weniger engen Reizfeld um den Stichkanal herum eine Wachstumshemmung der Zellen. Das weitere Reizfeld umfaßt den ganzen Wurzelquerschnitt, und mit der Entfernung aus dem engeren Reizfeld (im Extrem die andere Flanke der Wurzel) schwindet die Wachstumshemmung des Gewebes und mehrt sich eine Hypertrophie als Wirkung des Reblausstiches. Hieraus resultiert das Krümmen der Wurzel zur Angriffseite und das löffelartige Umwallen und Umwachsen der angreifenden Reblaus. Die Anzahl der Zellschichten des Querschnittes auf der angegriffenen und der gegenüberliegenden Flanke bleibt gleich. In der Nodosität scheint auch die Anzahl der Zellen in der Längsrichtung der Wurzel gleichzubleiben, und die ungleichen Längen der dem Insekt zugewandten und der vom Insekt abgewandten Seite scheint nur auf einer Hemmung der einen und einer Hypertrophie der anderen zu beruhen. Es ist also kein sekundäres Entstehen reaktionsfähiger Meristeme anzunehmen. Nur im entfernteren, weder wachstumsgehemmten noch hypertrophierenden Meristem ist vermehrte Zellteilung festzustellen.

Zur Bildung der Tuberositäten an älteren Wurzeln der Rebe ist es notwendig, daß die Reblaus den Stich durch tote und lebende Elemente des Periderms und des Rindenparenchyms führt. Der Stichkanal erreicht nicht immer das Kambium. Dabei ist es nun auffallend und für das Verstehen der Dinge von Bedeutung, daß unter der Wirkung des Stiches nur das durchstochene Phellogen und das Kambium unmittelbar leiden, wenn letzteres auch erreicht wird. Diese meristematischen Zellen verlieren den Turgor und schrumpfen. Die durchstochenen und angestochenen Zellen des Rindenparenchyms verhalten sich, soweit man es wahrnehmen kann, als ob an ihnen nichts geschehen wäre. Andererseits beginnt unter der Wirkung des Reblausstiches im interfaszikulären und zum Teil auch im faszikulären Kambium, gleichgültig ob letzteres vom Einstich erreicht wird oder ob der Einstich schon draußen im Rindenparenchym endet, ein lebhaftes Zellteilungswachstum (Hyperplasie) und nachfolgendes Zellstreckungswachstum (Hypertrophie). Die übliche Differenzierung der Kambiumabkömmlinge in Xylem- und Phloemelemente findet nicht statt. Sie hypertrophieren und vakuolisieren zum Gallenparenchym. In dem entstandenen Gallenparenchym, das sich durch Dilatationswachstum mit Rindenparenchym vermengt, geschieht nun dasselbe, was schon bezüglich der Bildung der Blattgallen beschrieben wurde. Durch den Übergang vom meristematischen zum parenchymatischen Charakter verlieren die Zellen die Fähigkeit, auf den vom Reblausstich ausgehenden stofflichen Reiz zu reagieren. Die Gallenentwicklung müßte deshalb bald zum Stillstand kommen. Sie geht aber weiter, und sie kann weitergehen, weil durch die entstehenden Gewebespannungen immer wieder sekundäre Meristeme, also immer erneut reaktionsfähige Gewebe entstehen. Die Vergallung bewirkt eine Unempfindlichkeit der Zelle gegen den Reiz, der die Vergallung verursacht hat; sie bewirkt aber durch ihr ungefügtes Wachstum Spannungen im Gewebe, welche Rückbildungen des Parenchyms zum Meristem und hierdurch das fortschreitende Neubilden reaktionsfähiger Zellen

verursacht. Aus diesem Zusammenwirken zweier Ursachenkomplexe ist das Zustandekommen jener verhältnismäßig umfangreichen, tumorähnlichen Gewebe abzuleiten, die das Gallenparenchym, die Tuberositäten, ausmachen.

Aus der Gegenüberstellung der Blattgallenbildung und der Entwicklung der Abwehrnekrosen an Blättern sowie der Nodositäten- und Tuberositätenbildung an Rebwurzeln geht klar hervor, daß es Meristeme sind, die auf den Vergallungsreiz der Reblaus und auf die Erregung der Nekrose reagieren. Die Reblausgallen sind deshalb alle, im Gegensatz zu der Anschauung von Börner (1949), daß es sich bei der Tuberositätenbildung um Parenchymvergallungen handelt, eindeutig als Meristemvergallungen zu erklären (Rosen 1916; Petri 1907, 1909; Sterling 1952).

Bezüglich der Frage, was stofflich die Gallenbildung verursache, hat sich in den letzten Jahren nach den Arbeiten von Link, Wilcox und Link (1937), Locke, Riker und Duggar (1939), Boysen-Jensen (1948, 1952), Nystekakis (1948) und Kloft (1951) die Anschauung entwickelt, daß ein gallenverursachender Pilz oder ein gallenverursachendes Insekt mit Wuchshormonen, welche vom Parasiten stammen, auf den Wirtsorganismus wirken soll. Wartenberg (1954) bezweifelt mindestens die Allgemeingültigkeit dieser Anschauung. Er konnte zeigen, daß die Apfelblutlausgalle sich nur dann unter der Einwirkung des Insektes entwickeln kann, wenn der Wirt voll im Trieb, sozusagen mit größter Intensität und Leistung im körpereigenen Hormonstoffwechsel steht. Von Erfahrungen mit unserem Objekt, den Reblausgallen, läßt sich hierzu nichts Eindeutiges sagen. Die Blattgallen entstehen und entwickeln sich nur, wenn die Blätter im jugendlichen Zustand sind, d. h. sich in der Phase des stärksten Zellteilungs- und Zellstreckungswachstum befinden. Dies spricht gegen die Möglichkeit, daß eine zusätzliche Hormonkonzentration nennenswert zur Wirkung kommen kann. Über den Hormonstoffwechsel der Wurzel wissen wir noch nichts, was ohne weitere Erfahrungen ein Urteil darüber erlauben würde, ob die Neigung oder die Abneigung zur Vergallung mit den Frequenzen des wirtseigenen Hormonstoffwechsels schwanken. Gegen die Annahme, daß ein Wuchshormon das wirkende Agens des Gallenerregers sei, spricht etwas, worauf Wartenberg (1954) aufmerksam machte. Er zeigte, daß Empfindlichkeitsschwankungen der Wirtsgewebe darüber entscheiden, ob das erregende Agens des Parasiten toxisch wirkend eine Nekrose erzielt oder in abfallenden Stufen bis zur Indifferenz verschiedene Gewebeelemente der Gallen erregt bzw. nicht erregt. Dieselbe Reihenfolge ergibt sich bei gleichbleibender Empfindlichkeit durch anzunehmende Konzentrationsdifferenzen des vom Parasiten ausgehenden und reagierenden Stoffes. Ähnliche Reihen von hyperergischer Wirkung, über normergische Wirkungen verlaufend und in Indifferenz ausklingend, kennt man bei den Wuchshormonen nicht.

Wenn wir andererseits annehmen, daß es sich bei der Wirkung, die vom Insekt ausgeht, nicht um einen, sondern um zwei Stoffe, ein gallenerregendes und ein Nekrose verursachendes Prinzip, handelt, wie es in ähnlicher Weise Börner (1949) als unterschiedliche Gene darstellt, dann kommt man dem

Gedanken der Wuchshormontheorie wieder näher. Es könnte sein, daß die Wirksamkeit beider Stoffe unabhängig voneinander schwankt. Ist das nekroseverursachende Toxin wegen zu geringer Konzentration oder wegen mangelnder Empfindlichkeit des Wirtes unwirksam, dann tritt vielleicht ein Hormon, welches die Vergallung fördert, merkbar in Funktion. Seine Funktion muß aber verborgen bleiben, wenn unter Bedingungen, die das Toxin zur Auswirkung bringen, das Gewebe nekrotisch wird. Die Nekrose ist selbstverständlich über jede andere Reaktionsnorm epistatisch.

Das dargestellte Zweistoffsystem ist die Idee einer Möglichkeit. Erfahrungen aus Experimenten gibt es hierzu nicht. Ja selbst die Trennung solcher zwei Stoffe, die den Nachweis der Dinge bringen könnte, ist methodisch noch nicht möglich.

WARTENBERG (1954) nimmt an, daß, wie schon besprochen wurde, die wirtseigenen Hormone, und zwar ohne Richtungssinn und Differenzierungseffekt wirken. Gegen diesen undifferenzierten Hormoneffekt wirke ein stofflich fundiertes Differenzierungsprinzip. In das Differenzierungsprinzip greife von seiten des Parasiten etwas, und zwar etwas Diffusibles ein und schalte es aus. WARTENBERG (1954) nannte diesen Vorgang in Anlehnung an einen bestehenden Begriff (HEILBRONN 1946) eine „Enddifferenzierung", wobei eher an die „Verhinderung der Differenzierung" oder an ein „Unterbleiben der Differenzierung" zu denken wäre. Er vertrat auch die These, daß bei der Verhinderung der arteigenen Differenzierung der Effekt nicht vollkommen zu sein braucht. Eine mindernde Wirkung soll bekannte Formen am unrechten Ort oder gar artfremde Formen hervorbringen können.

Auf Grund eigener Erfahrungen neigen wir auch dazu, den Parasiten nicht als Hormonspender anzusehen, sondern seinen Effekt als eine Störung des Gefüges der natürlichen Differenzierung zu erklären, wobei der wirtseigene Wuchsstoff eine Rolle spielen kann. Es gibt hierfür einen interessanten Anhaltspunkt aus der Nodositätenbildung, und zwar ist es die Beobachtung, daß unmittelbar auf den Reblausstich die Ausdifferenzierung der Endodermiszellen im Stichbereich unterbleibt. v. GUTTENBERGS (1943) Erkenntnis, daß die Endodermis in ihrer zellphysiologischen Funktion u. a. auch als wuchsstoffbegrenzende Scheide anzusehen ist (ARNOLD 1952), findet ihre Parallele in der Tatsache, daß in den Wurzeln, die eine Endodermis besitzen, ein Wuchsstofftransport in der radialen Richtung nicht erfolgt (SÖDING 1952). Da nun die Nodosität mit einer Wachstumshemmung auf der Flanke des engsten Reizfeldes und im entfernten Reizfelde mit einer Hypertrophie der Zellen in radialer Richtung einsetzt, kann geschlossen werden, daß hier ungleiche Wuchsstoffströme in radialen Richtungen der Wurzel vorkommen. Man muß dabei annehmen, daß die Verhinderung einer Ausdifferenzierung der Endodermis in den Flanken der Wurzeln ungleich ist. Sie wird am Zentrum des Reizfeldes, wo die höchste Konzentration des stofflichen Einflusses der Reblaus sein muß, am stärksten sein und zur gegenüberliegenden Flanke hin abnehmen. Es kann so möglich sein, daß der radiale Wuchsstoffstrom zur Einstichseite hin sehr stark und zur gegenüberliegenden Flanke hin

minder stark ist. Gegen beide Seiten ist er vielleicht stärker als gewöhnlich, aber für die Einstichseite ist er so stark, daß eine Wachstumshemmung erzielt wird, wogegen er für die gegenüberliegende Flanke zusätzlich wachstumsfördernd wirken kann. Die sichtbare, durch den Reblausstich verhinderte oder gehemmte, in den Flanken ungleiche Ausdifferenzierung der Endodermis ist die Grundlage dieser Vermutung. Die Beobachtungen deuten auf eine durch den Reblausstich induzierte Veränderung des zellphysiologischen Zustandes der Endodermis, und zwar auf eine ungleiche Veränderung in den verschiedenen Flanken hin, woraus sich die weiteren Erscheinungen bei der Nodositätenentwicklung ableiten lassen. Gestützt wird außerdem diese Vermutung durch die Beobachtung, daß im Vegetationskegel der stichabgewandten Seite, also an der Seite der Wurzel, an der die Endodermis normal ausdifferenziert ist, mehr Zellteilungen auftreten als auf der gegenüberliegenden Seite des Vegetationskegels. Nach Söding (1952) sind die Wuchsstoffe wahrscheinlich ganz allgemein auch am Teilungswachstum beteiligt. Unsere Vermutung, daß die Endodermis ihre normale Funktion verliert und dadurch maßgebend in die Nodositätenentwicklung eingreift, bedarf allerdings noch weiterer experimenteller Unterbauung. Soviel können wir jedoch mit der größten Wahrscheinlichkeit feststellen, daß, wenn Wuchsstoffe für die Gallenbildung eine Rolle spielen, nur in der Störung des wirtseigenen Wuchsstoffgleichgewichtes eine Wuchsstoffwirkung zu suchen ist.

Die Reaktionen der verschiedenen Organe der Wirtspflanze auf den Stich der Reblaus setzen mit dem Eindringen des Stechborstenbündels des Parasiten in das Gewebe ein. Die dabei zutage tretenden primären Erscheinungen und Reaktionen haben wir oben schon eingehend in anderem Zusammenhang unter Berücksichtigung und Gegenüberstellung der anfälligen (mit Vergallung reagierenden) und der nicht anfälligen (mit Abwehrreaktion reagierenden) Reben besprochen. Dabei stellte sich heraus, daß die primären Reaktionen auf den Stich des Parasiten bei anfälligen und bei nichtanfälligen Reben zum Teil gemeinsame Merkmale aufweisen. Die darauffolgenden Gewebebildungen setzen nur bedingt in unterschiedlicher Weise ein, deren Ursachen wir schon besprochen haben. Sie führen im folgenden nun dazu, daß einerseits bei den anfälligen Reben an Blättern und Wurzeln aus primären Meristemen oder aus Folgemeristemen Gallmeristeme entstehen, die letzten Endes Blattgallen und Wurzelgallen (Nodositäten und Tuberositäten) hervorbringen. Andererseits bilden sich bei den nicht anfälligen Reben die Nekroseflecke als sichtbare Erscheinungen (nekrogene Abwehrreaktionen). Die Ausbildung eines Wundmeristems scheint ganz allgemein charakteristisch für Abwehrreaktionen zu sein. Köhler (1931) beschreibt ebenfalls die Ausbildung eines Wundmeristems als Folge der nekrogenen Abortion der widerstandsfähigen Kartoffelsorten gegen *Synchytrium endobioticum*.

Nach unseren Untersuchungen hat sich also erwiesen, daß auch das Gewebe der Reblausgallen als ein „enddifferenziertes" oder, besser gesagt, ein an der „Differenzierung gehindertes" und im Extremen bei den Tuberosi-

täten richtungsloses und hypertrophes Parenchym zu bewerten ist (WARTENBERG 1954).

Zusammenfassung

Mit Mikrotomschnittserien wurde die Entwicklung der Reblausblattgallen, der Abwehrnekrosen am Blatt und der Nodositäten sowie der Tuberositäten an der Wurzel beobachtet.

Die Stichkanalspur eines Angriffes des Insektes kann nicht als Reaktion der betroffenen Zelle, sondern muß als ein Produkt des Stechborstenbündels des Parasiten beurteilt werden; denn das Insekt erzeugt einen extrazellulären Einstichkragen.

Alle durch die Reblaus verursachten Vergallungen am Blatt und an der Wurzel sind zunächst immer Reaktionen des primären Meristems. Es sind dabei überhaupt nur Meristeme reaktionsfähig. Während der Entwicklung der Gallen und Nekrosen können durch Gewebespannungen mehr oder weniger reaktionsfähige, sekundäre Meristeme entstehen, deren Abkömmlinge sich dann weiter an der Bildung der Gallen oder Abwehrnekrosen beteiligen.

Beim Übergang vom meristematischen in den parenchymatischen Zustand wird das Gewebe ebenso unempfindlich gegen den Vergallungsreiz und gegen die Nekroseverursachung der Laus, wie es das normale Parenchym auch ist.

Die Vergallung an den Blättern beginnt in einer entfernteren Umgebung des Reizfeldes in den meristematischen Zellagen des jungen, in der Entwicklung begriffenen Blattes, wobei es zunächst zu einer Hyperplasie mit nachfolgender Hypertrophie kommt.

Die nekrogene Abwehrreaktion bei den nichtkongenialen Reben beginnt mit einer Degeneration und nachfolgender Nekrose der Zellen des Reizfeldes. In den daran angrenzenden Zellen kommt es dann zur Ausbildung eines Wundmeristems. Die vom Wundmeristem zum Focus abgegebenen Zellen nekrotisieren ebenfalls, jedoch nur solange, wie das Blatt in der Entwicklung, vielleicht unter dem Einfluß des wirtseigenen Wuchssstoffhaushaltes, steht.

Die Nodosität entsteht durch eine Hypertrophie des Urmeristems der Wurzel. Die erste sichtbare zytologische Veränderung der anfälligen jungen Wurzelspitze ist außer den Primärreaktionen der durchstochenen Zellen eine durch den Insektenstich induzierte, also pathologisch bedingte Veränderung der Endodermiszellen im engeren Reizfeld. Im Vegetationskegel ist die Zellteilungsrate auf der stichabgewandten Seite größer. Die Hypertrophie beginnt mit einer radialen Streckung der Zellen auf der stichabgewandten Seite.

Die Tuberosität entwickelt sich aus dem interfaszikulären Kambium mit einer Hyperplasie. Es kommt dann zur Bildung eines Folgemeristems als sogenanntes Gallmeristem im Parenchym beiderseits des Markstrahles in der Rinde, aus dem heraus sich weitere Gallparenchyme entwickeln.

Die Frage der Gallenentstehung wird an Hand der Untersuchungsergebnisse diskutiert, wobei auf analoge Erkenntnisse aus der Vergallung von Malusarten durch die Blutlaus hingewiesen wird. Auch hier ist wahrscheinlich die Wirtspflanze und nicht das Insekt der Wuchsstofflieferant. Die Wirkung des Insektes ist als eine toxigene Verhinderung des Differenzierungswachstums

bei der Pflanze zu beurteilen, was zu sinn- und richtungslosen Hyperplasien und Hypertrophien führt. Ein noch weiter gesteigerter Effekt vermutlich desselben Prinzips ist die Nekrose. Scheinbar spezifisch fremddienliche Formbildungen sind aus minder wirkungsvollen Verhinderungen der Differenzierung und aus zwangsläufigen Gewebelagen und Gewebespannungen zu erklären.

Für die Stellung des Themas und Förderung der Arbeit möchte ich Herrn Prof. Dr. H. Wartenberg danken.

Literaturverzeichnis

1. Arnold, A., 1952: Über den Funktionsmechanismus der Endodermiszellen der Wurzel. Protoplasma **XLI**, 189.
2. Beyerinck, M. W., 1882: Über die ersten Entwicklungsstadien einiger Cynipidengallen. Verh. Nederl. Akad. Wetensch.
3. Börner, C., 1912: Untersuchungen über die Reblaus. Mitt. K. Biol. Anst. **12**, 39.
4. — —, 1924: Neue Untersuchungen zur Reblausrassenfrage. Angew. Bot. Z. Nutzpflanzen **4**, 160.
5. — —, 1925: Die neuen Forschungen zur Reblausrassenfrage. Dtsch. Weinbau Nr. 1, 2, 3, 4, 5.
6. — —, 1927: Über den Einfluß der Entwicklungsdauer von Pflanzenparasiten nach Untersuchungen an der Reblaus. Nebst allgemeinen Bemerkungen über Anfälligkeit, Resistenz und Immunität. Z. angew. Ent. **13**, 108.
7. — —, 1932: Aphidoidae, Blattläuse. Sorauer, Handb. f. Pflanzenkrankh., 4. Aufl., **5**, Paul Parey, Berlin.
8. — — und Schilder, F. A., 1934: Beiträge zur Züchtung reblaus- und mehltaufester Reben. II. Das Verhalten der Blattreblaus zu den Reben des Naumburger Sortimentes. Mitt. Biol. Reichsanst. **49**, 5.
9. — —, 1939: Anfälligkeit, Resistenz und Immunität der Reben gegen Reblaus, allgemeine Gesichtspunkte zur Frage der Spezialisierung von Parasiten; die harmonische Beschränkung des Lebensraumes. Z. hyg. Zool. u. Schädlingsbekämpf. **31**, 274.
10. — —, 1942: Die Anfälligkeit der Unterlagsreben gegen die Reblaus. Wein und Rebe, H. 8, 145.
11. — —, 1943: 30 Jahre deutsche Rebenzüchtung. Bremer Beiträge zur Nat. Wiss. Reihe G, H. 3.
12. — —, 1949: Die erblichen Grundlagen von Befall und Nichtbefall durch tierische Parasiten. Nachr. Bl. dtsch. Pflanzenschutzd. **3**, 121.
13. — —, 1952: Europae centralis Aphidae. Die Blattläuse Mitteleuropas. Mitt. Thür. Bot. Ges., H. 4.

13a. — —: 1952: Mündliche Mitteilung.

14. Boysen-Jensen, P., 1948: Formation of Galls by *Mikiola fagi*. Physiol. Plant. **1**, 95.
15. — —, 1952: Untersuchungen über die Bildung der Galle von *Mikiola fagi*. Det Kongelige Danske Videnskabernes Selsk. Dan. Biol. Medd. **18**, 1.
16. Brauner, L., 1929: Das kleine physiologische Praktikum. Jena.
17. Büsgen, M., 1892: Der Honigtau. Biologische Studien an Pflanzen und Pflanzenläusen. Jena.
18. Cholodny, N., 1931: Zur Physiologie des pflanzlichen Wuchshormons. Planta **14**, 207.
19. Cornu, M., 1873: Pour combattre le *Phylloxera*. Mém. Acad. des Sc. **25**, 1.
20. — —, 1876: Études sur la nouvelle maladie de la vigne. Mém. Prés. Sav. Acad. Sci. Inst. Nat. France **12**, Nr. 6.
21. — —, 1878: Études sur le *Phylloxera vastatrix*. Mém. Prés. Div. Sav. Acad. Nat. France, **26**, 1.
22. Cosens, M., 1912: A contribution of the morphology and biology of insect galls. Trans. Roy. Canad. Inst. **9**, 297.

23. Drawert, H., 1937: Untersuchungen über den Erregungs- und Erholungsvorgang in pflanzlichen Geweben nach elektrischer und mechanischer Reizung. Planta **26**, 391.
24. Foex, G., 1876: Notes relatives aux effets produits par le *phylloxera* sur les racines de divers cépages américains et indigènes. Compt. Rend. Acad. Sci. Paris.
25. Gäumann, E., 1951: Pflanzliche Infektionslehre. Basel.
26. V. Guttenberg, H., 1943: Die Aufgaben der Endodermis. Biol. Zentralbl. **63**, 236.
27. Haberlandt, G. F., 1887: Über die Beziehungen zwischen Lage und Funktion des Zellkernes. Jena.
28. — —, 1918: Physiologische Pflanzenanatomie. Leipzig.
29. — —, 1921: Über Auslösung von Zellteilungen durch Wundhormone. Sitzber. Preuß. Akad. Wiss. **8**, 221.
30. — —, 1921: Wundhormone als Erreger von Zellteilungen. Beitr. allg. Bot. **2**, 1.
31. Heilbronn, A., 1946: Über Entdifferenzierungen. Sonderdruck Istambul.
32. Kloft, W., 1951: Insekten steuern das Wachstum der Pflanzen. Umschau, H. 2.
33. Küster, E., 1911: Die Gallen der Pflanzen. Leipzig.
34. — —, 1916: Pathologische Pflanzenanatomie. Jena.
35. — —, 1930: Anatomie der Gallen. Linsbauer Handb. d. Pflanzenanatomie, **5**.
36. Köhler, E., 1931: Über das Verhalten von *Synchytrium endobioticum* auf anfälligen und widerstandsfähigen Kartoffelsorten. Arb. Biol. Reichsanst. **19**, 236.
37. Link, G. K. K., Wilcox, H. W. and Link, A. D., 1937: Responses of bean and tomato to *Phytomonas tumefaciens, P. tumefaciens* extracts, B-indolacetic and wounding. Bot. Gaz. **98**, 816.
38. Locke, S. B., Riker, A. J. and Duggar, B. M., 1939: The nature of growth substance originating in crown gall tissue. J. Agric. Res. **59**, 535.
39. Magnus, W., 1914: Die Entstehung der Pflanzengallen, verursacht durch Hymenopteren. Jena.
40. Millardet, A., 1889: Études des Altération produites par le *Phylloxera* sur les racines de la vigne. Revue de Viticulture.
41. Nysterakis, F., 1948: Phytohormones et inhibition de la croissance des organes végétaux attaqués par les Aphides. R. C. Acad. Sci. **226**, 746.
42. Petri, L., 1907: Studi sol marciume delle radici nelle viti fillocerate. Roma.
43. — —, 1909: Über die Wurzelfäule phylloxerierter Weinstöcke. Z. f. Pflanzenkrankh. **19**, 18.
44. Rathey, E., 1889: Das Auftreten der Gallenlaus im Versuchsgarten zu Klosterneuburg im Jahre 1887. Verh. Zool. Bot. Ges. Wien, **39**, 47.
45. Rosen, H. R., 1916: The development of the *Phylloxera vastatrix* leaf gall. Am. J. Bot. **3**, 337.
46. Ravaz, L., 1897: Contribution à l'études de la résistance phylloxérique. Revue de Viticulture, Tom. **7**, 109, 137, 193.
47. Rawitscher, F., 1933/34: Wohin stechen die Pflanzenläuse? Z. f. Bot. **26**, 145.
48. Spalding, V. M., 1894: The traumatotropic curvature of roots. Ann. of Bot. **8**, 423.
49. Stellwaag, F., 1928: Die Weinbauinsekten der Kulturländer. Berlin.
50. Sterling, Cl., 1952: Ontogeny of the *Phylloxera* gall of grape leaf. Am. J. Bot, **34**, 6.
51. Söding, H., 1952: Die Wuchsstofflehre. Stuttgart.
52. Wartenberg, H., 1949: Das Reblausproblem. Festschr. 50jähr. Bestehen d. Biol. Zentralanst. 173.
53. — —, 1954: Histologische Studien über Blutlausgallen, Blutlausabwehrnekrosen, Parenchymholzbinden und Markflecke bei Malussorten. Wiss. Z. d. Friedrich-Schiller-Univ. Jena **3**, 409.
54. Wells, B. W., 1920: Early stages in the development of certain *Pachypsylla* galls on Celtic. Am. J. Bot. **7**, 275.
55. v. Wisselingh, C., 1926: Beitrag zur Kenntnis der inneren Endodermis. Planta **2**, 27.
56. Zweigelt, F., 1915: Beiträge zur Kenntnis des Saugphänomens der Blattläuse und der Reaktion der Pflanzenzellen. Zbl. Bakt. Abt. II, **42**, 265.
57. — —, Beiträge zur Kenntnis der Blattlausgallen. Biologia generalis **16**, H. 4.
58. — —, 1941: Immunität und Gallenproblem. Z. angew. Ent. **28**, 194.

Aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- u. Forstwirtschaft, Institut für landwirtschaftliche Virusforschung, Braunschweig

Elektronenmikroskopische Untersuchungen über Kartoffelviren

II. Vermessung der Teilchen von drei Stämmen des Rattle-Virus

Von

H. L. Paul und O. Bode

Mit 12 Abbildungen

Die Viren, die das Stengelbunt der Kartoffelpflanze, die Streifen- und Kräuselkrankheit (= Rattle = Mauke) des Tabaks und eine Mosaikkrankheit an *Sonchus arvensis* hervorrufen, scheinen identisch bzw. nur verschiedene Stämme ein und desselben Virus zu sein. Hierüber liegen für das Stengelbunt- und das Rattle-Virus bereits Untersuchungen vor (Rozendaal und van der Want, 1948), über das „Distel"-Virus (Köhler, 1952) wird demnächst eine weitere Studie veröffentlicht werden.

Während die Ausbildung der Symptome auf Wirtspflanzen bei den drei Virusstämmen in gewissen Punkten differiert, gleichen sich eine Anzahl physikalischer Daten. Mit Hilfe des Elektronenmikroskopes sollte die Frage geklärt werden, ob Unterschiede in der Größe der Virusteilchen bestehen oder nicht. Handelt es sich nur um verschiedene Stämme e i n e s Virus, dann sind in allen Fällen gleiche Längen und Dicken der Teilchen zu erwarten, wie es für das Kartoffel-X-Virus nachgewiesen werden konnte (Bode und Paul, 1955). Zugleich sollen in diesem Zusammenhang die Ergebnisse von van der Want und Rozendaal (1948) diskutiert werden, deren Längenverteilungspolygone für die Teilchen des Stengelbunt- und Rattle-Virus mit den unseren zunächst nicht in Übereinstimmung gebracht werden konnten.

Methodik

Als Versuchspflanze diente *Nicotiana tabacum var. Samsun* (Samsuntabak) bzw. auch *Nicotiana glutinosa*. Exsudate und Zentrifugate gewannen wir nie von den beimpften, sondern immer von den nachgewachsenen, systemisch infizierten Blättern. Bis auf eine Serie aus dem Jahre 1953 wurden alle Versuche im Herbst 1954 ausgeführt.

Um möglichst einheitliche Präparate zu erhalten, gewannen wir die drei Viren nach der Exsudatmethode von Johnson (1951). Daneben untersuchten wir in allen Fällen auch Zentrifugate. Hierzu wurde das kranke Blattmaterial (etwa $^1/_2$ Tabakblatt) im Mörser unter Zusatz von 10 bis 15 cm³ aqua dest. fein zerrieben. Der dünnflüssige Brei wurde 5 Minuten bei 5000 U/min in einer Winkelzentrifuge (Pirouette) abgeschleudert. Die überstehende Flüssigkeit behandelten wir nochmals 10 Minuten bei 10 000 U/min. Ein

kleines Volumen davon wurde schließlich mit aqua dest. im Verhältnis 1 : 70 oder 1 : 100 verdünnt und auf die Folie des Objektträgers gebracht. Die Präparate wurden mit Platin schräg bedampft. Die elektronenmikroskopische Vergrößerung betrug 5400, die Gesamtvergrößerung bei der Vermessung 40 000. Zur Kontrolle haben wir mit Hilfe der Zentrifugatmethode Mischpräparate von Tabakmosaik-Virus (TMV) und Stengelbunt-Virus hergestellt, so daß die zu messende Teilchenlänge auf die des TMV bezogen und notfalls korrigiert werden konnte (TMV = 280 — 300 mμ; WILLIAMS, 1953). Die Meßergebnisse wurden als Treppenpolygone mit einer Klassenbreite von 12,5 mμ dargestellt.

Ergebnisse

Alle drei Viren bieten sich auf den Aufnahmen als völlig starre, dicke und ziemlich kurze Stäbchen dar (Abb. 1). Infolge der Starrheit sind die Virusteilchen anscheinend sehr fragil, wie die im Vergleich zu anderen Viren wesentlich häufiger vorkommenden kleinen Bruchstücke vermuten lassen (Abb. 2).

Abb. 1. Teilchen des Stengelbunt-Virus. Vergr. 30 000×

Abb. 2. Mischzentrifugat von Stengelbunt- und Tabakmosaik-Viruspartikeln. Vergr. 30 000×

A. Längenmessungen

Stengelbunt-Virus

Das Virus wurde von Freilandkartoffeln isoliert und auf Tabak weiterkultiviert. Vermessungen von Exsudaten aus elf Tage zuvor mit diesem Virus infizierten Samsuntabak-Pflanzen ergaben ein zweigipfliges Polygon (Abb. 3)*). Die zu seiner Beurteilung notwendigen Werte sind in Tabelle 1 zusammengestellt, wobei die Abgrenzung der Gaussverteilungen durch Auswertung der Summenprozentkurven auf Wahrscheinlichkeitspapier erfolgte.

*) Aus drucktechnischen Gründen mußte in den Figuren die Darstellung der wenigen längeren Teilchen unterbleiben.

Längsaggregationen zu Längen über 200 mμ kamen kaum vor. Ob kürzere Virusbruchstücke als die mit 25 mμ Länge auftraten, ließ sich schlecht beurteilen. Solche kleinen Teilchen blieben unberücksichtigt, da deren Vermessung nur ungenau auszuführen ist und die Gefahr besteht, Fremdpartikeln zu messen.

Die Meßreihen an Zentrifugaten von Samsunblättern (elf Tage zuvor beimpft) ließen ebenfalls ein zweigipfliges Polygon entstehen (Abb. 4 und Tabelle 1). Aggregationen zu Längen über 200 mμ sind auch hier kaum vorhanden. In der Lage der Mittelwerte entsprechender Verteilungen bestehen keine gesicherten Unterschiede gegenüber den Exsudaten. Wie Tabelle 1 zeigt, hat sich aber der Prozentsatz der kleinen Teilchen (1. Verteilung) offenbar auf Kosten der großen (2. Verteilung) erhöht. Dieser Sachverhalt läßt sich gut deuten, wenn man annimmt, daß infolge der Zentrifugation ein Zerbrechen in kleinere Einheiten begünstigt wird.

In einer anderen Versuchsreihe diente nicht Samsuntabak, sondern *Nicotiana glutinosa* als Wirtspflanze. In diesem Falle waren außerdem die Pflanzen schon neun Wochen zuvor mit dem Stengelbuntvirus beimpft worden. Die Polygone für die Exsudate und die Zentrifugate (Abb. 5. u. 6) weisen je zwei Gaußverteilungen auf, deren Begrenzung und Mittelwerte, trotz der veränderten Versuchsbedingungen, recht gut mit den entsprechenden Daten der vorigen Polygone (Abb. 3 u. 4) übereinstimmen (s. Tabelle 1). Beim Vergleich von Exsudaten und Zentrifugaten zeigte sich auch die charakteristische Erhöhung der Anzahl der kleinen Teilchen in den Zentrifugaten.

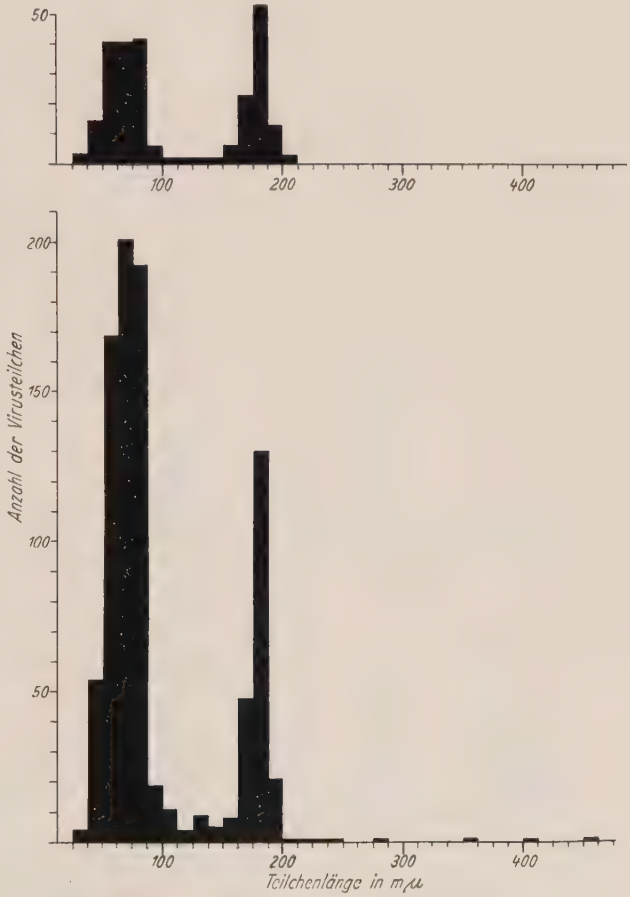

Abb. 3 u. 4. Stengelbunt-Virus aus Samsuntabak
Abb. 3 (oben) Exsudate. Abb. 4 (unten) Zentrifugate

Tabelle 1 Auswertung

Virus	Wirtspflanze	Präparation und Nr. des zugehörigen Polygones	Zahl der gemessenen Teilchen	1. Gauß- Verteilungsgrenzen zwischen den Klassen (einschl.)	Anzahl der Teilchen in dieser Verteilung	%
Stengelbunt-Virus	Samsun	Exsudat, Abb. 3	261	25 — 87,5	148	**56,7**
		Zentrifugat, Abb. 4	884	37,5—100	647	**73,2**
	N. glutinosa,	Exsudat, Abb. 5	519	37,5—112,5	149	**28,7**
		Zentrifugat, Abb. 6	325	37,5—100	163	**50,3**
Rattle-Virus	Samsun	Exsudat, Abb. 7	314	37,5— 87,5	189	**60,2**
		Zentrifugat, Abb. 8	311	37,5— 87,5	164	**52,8**
„Distel"-Virus ..	Samsun	Exsudat, Abb. 9	374	37,5—100	119	**31,9**
		Zentrifugat, Abb. 10	400	25 —87,5	156	**39,0**
			3388	Gesamtmittel:		

Verhältnis der Mittelwerte = 1 : 2,6

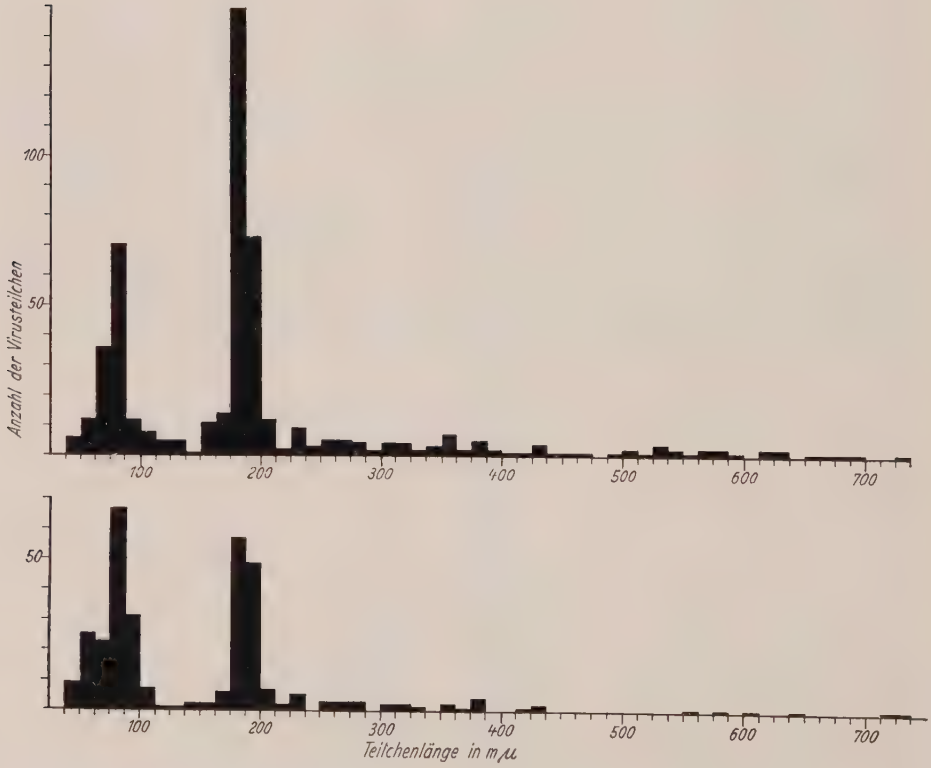

Abb. 5 u. 6. Stengelbunt-Virus aus *Nicotiana glutinosa*
Abb. 5 (oben) Exsudate. Abb. 6 (unten) Zentrifugate

der Polygone 3 bis 10

Tabelle 1

verteilung				2. Gaußverteilung						
Mittelwert der Verteilung M	Standard-Abweichung σ	Variabilitätskoeff. V	Mittl. Fehler des Mittelwertes m	Verteilungsgrenzen zwischen den Klassen (einschl.)	Anzahl der Teilchen in dieser Verteilung	%	Mittelwert der Verteilung M	Standard-Abweichung σ	Variabilitätskoeff. V	Mittl. Fehler des Mittelwertes m
66,6	± 16,0	24,0	± 1,31	150 —200	98	**37,5**	**179,3**	± 10,5	5,9	± 1,06
66,7	± 13,7	20,5	± 0,54	150 —187,5	207	**23,4**	**178,7**	± 8,4	4,7	± 0,58
78,4	± 15,1	19,3	± 1,24	150 —200	259	**50,0**	**184,2**	± 9,9	5,4	± 0,61
77,2	± 15,5	20,1	± 1,22	162,5—200	119	**36,6**	**187,3**	± 8,6	4,6	± 0,79
75,0	± 11,4	15,1	± 0,83	150 —187,5	116	**36,9**	**177,0**	± 8,7	4,9	± 0,81
74,7	± 10,6	14,2	± 0,83	150 —200	106	**34,1**	**178,2**	± 11,3	6,3	± 1,15
70,0	± 15,9	22,7	± 1,37	125 —200	207	**55,3**	**176,9**	± 15,0	8,5	± 1,04
57,4	± 15,3	26,7	± 1,22	137,5—212,5	174	**43,5**	**182,0**	± 19,8	10,9	± 1,50
69,7							**180,8**			

Rattle-Virus

Das Rattle-Virus (Isolierung aus Feldtabak) wurde ausschließlich von Samsuntabak gewonnen, und zwar die Exsudate aus Pflanzen, die zwei bis drei Wochen zuvor beimpft worden waren. Bei den Zentrifugaten wurden außerdem noch Pflanzen benutzt, die schon sechs Wochen zuvor beimpft waren. Abb. 7 und Tabelle 1 geben die Meßergebnisse für die Exsudate, Abb. 8 und Tabelle 1 für die Zentrifugate wieder. Es besteht kein gesicherter Unterschied in der Lage entsprechender Gaußverteilungen und ihrer Mittelwerte zwischen beiden Meßreihen. Der Einfluß der Präparation ist gleichfalls nur geringfügig, wie die prozentuale Teilchenanzahl für die Verteilungen zeigt. Ein Deutungsversuch der in Abb. 8 auftretenden Aggregationen soll später gegeben werden.

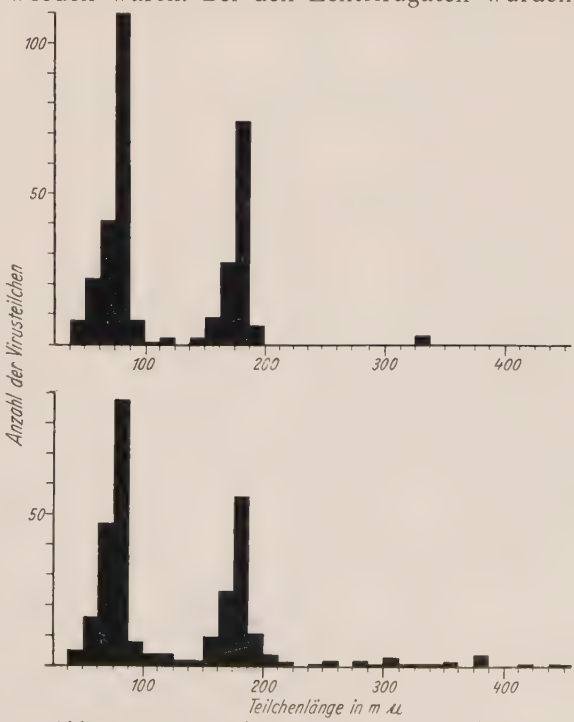

Abb. 7 u. 8. Rattle-Virus aus Samsuntabak
Abb. 7 (oben) Exsudate. Abb. 8 (unten) Zentrifugate

„Distel"-Virus

Das von *Sonchus arvensis* stammende „Distel"-Virus wurde auf Samsuntabak kultiviert und von diesen Pflanzen gewonnen. Die Beimpfung erfolgte etwa zwei Wochen vor der Untersuchung. Für die Exsudate und Zentrifugate zeigen die Polygone (Abb. 9 u. 10) sowie die Tabelle 1 die Resultate der Vermessungen. Wie auch in den obigen Fällen sind die Polygone zweigipflig und zeigen in der Lage entsprechender Verteilungen eine befriedigende Übereinstimmung. Quantitativ ist bei den Zentrifugaten wahrscheinlich als Folge der Präparationsmethode die Menge der Bruchstücke etwas erhöht. Eine beträchtliche Anzahl von Aggregationen findet sich in beiden Polygonen.

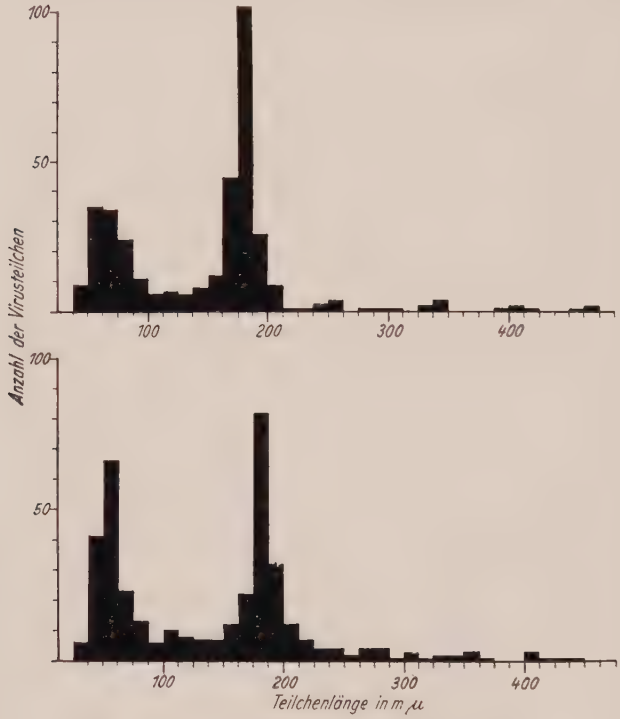

Abb. 9 u. 10. „Distel"-Virus aus Samsuntabak
Abb. 9 (oben) Exsudate. Abb. 10 (unten) Zentrifugate

Bei der Auswertung der Rattle-Virus-Zentrifugate zeigten einige Präparate aggregierte Teilchen über 250 mμ Größe, andere dagegen nicht. Es ergab sich, daß die aggregierten Teilchen aus Blättern stammten, die schon mehrere Wochen systemisch krank waren, während bei den Präparaten ohne Aggregationen die Infektion der Pflanzen erst 2 bis 2½ Wochen zurücklag. (In Abb. 8 kommt das nicht zum Ausdruck, weil hier das Gesamtmaterial dargestellt wurde.) Gut stimmt mit diesem Befund überein, daß beim Stengelbunt-Virus in Abb. 3 und 4 weniger Aggregationen vorhanden waren als in Abb. 5 und 6, denn diese beiden Kurven stammten ebenfalls von älteren Blättern. Freilich könnte hier auch der bislang noch sehr wenig bekannte Einfluß der Wirtspflanze mitgespielt haben. Daß aber auch beim „Distel"-Virus Aggregationen vorkamen, läßt sich nicht mit dem Alter der Infektion erklären, weil nur junge Blätter verwendet wurden. Hier sind jedoch die Präparate mit Aggregationen von jungen Blättern im Herbst 1953 hergestellt worden, während diejenigen ohne Aggregationen im Herbst 1954 entstanden. (In Abb. 9 und 10 nicht getrennt dargestellt.) Die Außenbedingungen dürften in beiden Fällen recht verschieden gewesen sein. Solange nicht ein größeres Beobachtungsmaterial vorliegt, können aus diesen Beobachtungen keine Schlüsse gezogen werden.

Vergleich der drei Viren

Wie die Abbildungen 3 bis 10 zeigen, sind die Viren gestaltlich und größenmäßig ziemlich gleich. Um die Polygone vergleichen zu können, sind

in Tabelle 1 die Mittelwerte der einzelnen Verteilungen, deren Standardabweichung, der Variabilitätskoeffizient und der Fehler des Mittelwertes angegeben.

Tabelle 2

Statistische Sicherungen

(+ = Differenz gesichert, — = Differenz ungesichert)

Vergleich zwischen den Mittelwerten bei		Differenz der Mittelwerte der 1. Gaußverteilung	Differenz der Mittelwerte der 2. Gaußverteilung
1.	2.		
Stengelbunt Samsun, Exsudat	Stengelbunt Samsun, Zentrifugat ...	—	—
Stengelbunt *N. glutinosa*, Exsudat ..	Stengelbunt *N. glutinosa*, Zentrifugat	—	+
Stengelbunt Samsun, Exsudat	Stengelbunt *N. glutinosa*, Exsudat ..	+	+
Stengelbunt Samsun, Zentrifugat ...	Stengelbunt *N. glutinosa*, Zentrifugat	+	+
Rattle, Exsudat	Rattle, Zentrifugat	—	—
„Distel", Exsudat	„Distel", Zentrifugat ...	+	—
Stengelbunt Samsun, Exsudat	Rattle, Exsudat	+	—
Stengelbunt Samsun, Zentrifugat ...	Rattle, Zentrifugat	+	—
Stengelbunt Samsun, Exsudat	„Distel", Exsudat	—	—
Stengelbunt Samsun, Zentrifugat ...	„Distel", Zentrifugat ...	+	—
Rattle, Exsudat	„Distel", Exsudat	+	—
Rattle, Zentrifugat	„Distel", Zentrifugat ...	+	—

In Tabelle 2 sind dann die Sicherungen der Differenzen zwischen den entsprechenden Mittelwerten aufgeführt (Grenze ± 3 m). Hiernach kommen scheinbar gesicherte Längenunterschiede bei den Viren vor. Es ist jedoch zu beachten, daß diese Berechnungen der Polygone die Geräte- und Meßfehler nicht berücksichtigen. Bei den in unseren Versuchen vorliegenden Verhältnissen läßt sich aber die Länge bei der Vermessung mit Hilfe des Projektionsapparates höchstens auf 10 mμ genau bestimmen, und außerdem ist noch der Fehler, den das Elektronenmikroskop selbst bringt, zu berücksichtigen. Dieser Fehler wirkt sich aber nur auf die einzelnen Aufnahmen (mit jeweils verschieden großer Anzahl von Teilchen), jedoch nicht auf die einzelnen Partikeln aus. Es ist darum durchaus möglich, daß trotz der großen Anzahl vermessener Teilchen kein Ausgleich dieses Fehlers erfolgt. Setzt man das in Rechnung, dann sind nach unseren Messungen zwischen den Mittelwerten der entsprechenden Verteilungen bei den drei Stämmen keine gesicherten Unterschiede vorhanden*). Für die erste Verteilung ergibt sich ein Gesamtmittel von 70 mμ und für die zweite Verteilung eines von 180 mμ.

*) Faßt man die Teilchen der ersten Verteilung nur als Bruchstücke des intakten Virus auf, so ist vielleicht für sie eine Mittelwertbildung und eine Beurteilung der Differenzen der Mittelwerte überhaupt problematisch.

Ein Unterschied zwischen den Stämmen könnte in der verschieden starken Brüchigkeit der Teilchen bestehen. Wie Tabelle 1 zeigt, wird beim Stengelbuntvirus die prozentuale Anzahl der Teilchen in der ersten Verteilung durch die Zentrifugation offenbar auf Kosten der Teilchenzahl in der zweiten Verteilung deutlich erhöht. Beim „Distel"-Virus ist diese Verschiebung weniger deutlich und beim Rattle-Virus nicht vorhanden. Bemerkenswert ist noch das Längenverhältnis des Gesamtmittelwertes von erster und zweiter Verteilung zueinander: es ist 1 : 2,6.

B. Dickenmessungen

Die Bestimmung der Dicke ist bei den kleinen Ausmaßen schwierig (s. WILLIAMS, 1953). Daher wurde eine indirekte Methode verwendet. Ein Stengelbunt-TMV-Mischpräparat (Zentrifugat) wurde schräg bedampft. An ihm konnten die Durchmesser beider Viren verglichen werden. Bei Annahme einer Dicke des TMV von 15 mμ ergab sich die Dicke der Stengelbuntvirus-Teilchen zu etwa 20 mμ.

Rattle- und „Distel"-Virus wurden nicht vermessen. Auf Grund unserer Aufnahmen kann auch ihr Durchmesser mit etwa 20 mμ angenommen werden.

C. Molekulargewichte

Aus den Daten für Durchmesser und Länge und bei Annahme des partiellen spezifischen Volumens $V_0 = 0{,}75$ (SCHRAMM, 1954) läßt sich das Molekulargewicht der Teilchen bestimmen. Es ist für Partikeln der Länge 180 mμ : $M_{180} = 45{,}7 \times 10^6$ und für Teilchen der Länge 70 mμ : $M_{70} = 17{,}7 \times 10^6$. Teilchen der Länge 180 mμ haben also ein höheres Molekulargewicht als die fast doppelt so langen TMV-Partikeln.

Diskussion

VAN DER WANT und ROZENDAAL (1948) sind anscheinend die einzigen Autoren, die für Stengelbunt- und Rattle-Virus Längenverteilungspolygone

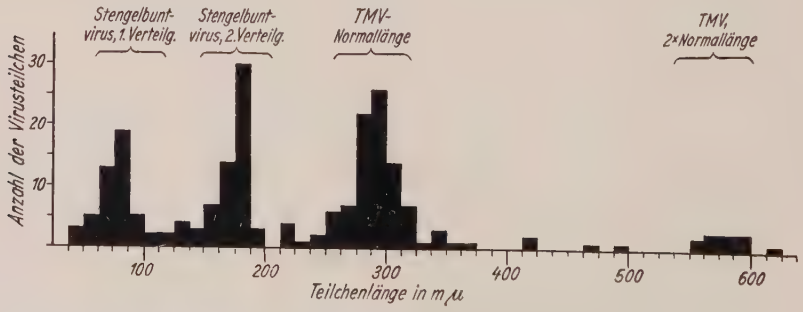

Abb. 11. Stengelbunt-TMV-Mischzentrifugate

angegeben haben. Sie fanden zwei Maxima, und zwar bei 300 und 150 mμ. Zu unseren Werten ergeben sich somit erhebliche Differenzen nicht nur bezüglich der absoluten Ausmaße, sondern auch der Verhältnisse der Maxima zueinander. Um die Absolutmaße zu überprüfen, wurden von uns Stengelbunt-TMV-Mischpräparate angefertigt und vermessen. Das Verteilungspolygon ist in Abb. 11 dargestellt. Der Mittelwert für die TMV-Verteilung liegt bei 290 mμ. Die Angaben in der umfangreichen Literatur bestätigen die Richtigkeit dieses Wertes. Für das Stengelbuntvirus finden sich dann die Mittelwerte für die erste bzw. zweite Verteilung bei 74 bzw. 174 mμ, d. h. die Übereinstimmung mit den Werten unserer obigen Versuchsreihen ist gut und damit dürften die Längenangaben von 70 und 180 mμ gesichert sein. Leider lassen sich die Ergebnisse VAN DER WANTS und ROZENDAALS nicht durch eine einfache Korrektur der Vergrößerung berichtigen, da bei ihnen das Verhältnis der Maxima zueinander 1 : 2 beträgt. Vergleicht man unsere Mischpräparat-Kurve mit den Kurven der genannten Autoren, so erscheint eine Deutung möglich, wenn man das 300-mμ-Maximum mit unserem TMV-Mittelwert und das 150-mμ-Maximum mit unserem 180-mμ-Stengelbunt-Mittelwert gleichsetzt. Man müßte daher annehmen, daß den beiden Autoren damals ein mit TMV verunreinigtes Präparat des Stengelbuntvirus vorgelegen hat. Aus der Abb. 2 a ihrer Arbeit läßt sich in der Tat ein Unterschied in der Dicke der Partikeln erkennen, wie das auch bei unseren Mischpräparaten zu sehen war (Abb. 2). Daß die Autoren nur zweigipflige und keine dreigipfligen Polygone darstellen, liegt offensichtlich daran, daß das Maximum bei 70 mμ überhaupt nicht mehr berücksichtigt worden ist. Diese Annahmen dürften die Diskrepanz zwischen den Ergebnissen VAN DER WANTS und ROZEN-

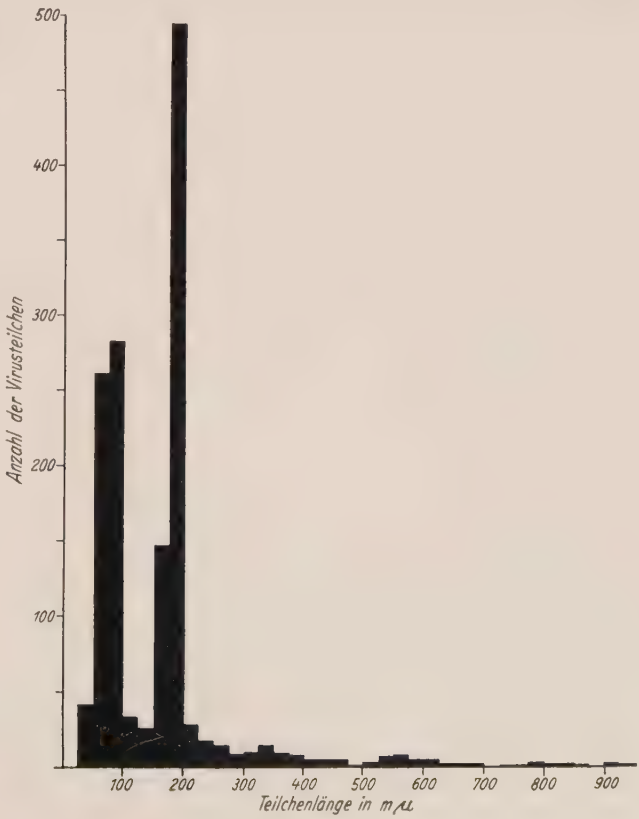

Abb. 12. Gesamtpolygon aller Exsudate

DAALS und unseren eigenen Messungen klären. Offen bleibt die Frage, weshalb das Rattle- und Stengelbuntvirus-Maximum bei ihnen bei 150 mμ und nicht bei 180 mμ liegt. Indes können diese Differenzen durch die etwas andere Präparationsart oder infolge von Meßungenauigkeiten entstanden sein. Die Dickenangabe von 20 mμ stimmt mit unseren Ergebnissen überein.

Auf Grund unserer Messungen darf man den Teilchen der drei Virusstämme die ausgezeichneten Längen von etwa 70 und 180 mμ und eine Dicke von etwa 20 mμ zuordnen. Da gesicherte Unterschiede nicht vorhanden sind, wird die Vermutung, es mit drei Stämmen e i n e s Virus zu tun zu haben, auch durch die morphologischen Befunde gestützt. Deshalb haben wir in Abb. 12 die Meßergebnisse aller Exsudate zu einem Polygon mit der Klassenbreite von 25 mμ zusammengefaßt.

Möglicherweise besteht ein Unterschied der Stämme im Grade ihrer Brüchigkeit, denn der Einfluß der Präparation äußerte sich bei den Stämmen verschieden stark: beim Stengelbuntvirus war die prozentuale Erhöhung der Teilchenzahl in der ersten Verteilung auf Kosten derjenigen in der zweiten Verteilung nach Zentrifugation am größten, beim „Distel"-Virus war sie schwächer und beim Rattle-Virus nicht merkbar. Freilich reicht der Umfang der vorliegenden Beobachtungen nicht aus, um diese Hypothese zu sichern, so daß sie nur vermutungsweise geäußert werden kann. Eigenartig ist das Längenverhältnis der Spaltstücke (1 : 2,6). Man könnte daran denken, daß ein Gemisch zweier verschiedener Viren vorliegt. Diese Annahme erscheint indes wenig wahrscheinlich, da sowohl die Art der eben erwähnten Verschiebungen in der mengenmäßigen Verteilung als auch die biologische Einheitlichkeit der Viren dagegen spricht. Eine Erklärung des Spaltungsverhältnisses ist vorerst nicht möglich. Ob es als Folge des Virusaufbaues aus kleineren Einheiten unter Annahme von bevorzugten Aggregationszahlen derselben gedeutet werden könnte, werden weitere Versuche zeigen müssen. Offensichtlich spielen die sonst üblichen Zusammenlagerungen zu doppelten bzw. Spaltungen zu halben „Normallängen" hier keine Rolle.

Die Deutsche Forschungsgemeinschaft hat durch Bereitstellung von Geräten diese Arbeit ermöglicht, wofür wir ihr unseren Dank aussprechen möchten. Ebenfalls gedankt sei an dieser Stelle Fräulein S. PAPE, die die mühevolle Vermessung des Aufnahmematerials ausführte.

Zusammenfassung

Drei Stämme des Rattle-Virus (Stengelbunt-, Rattle- und „Distel"-Virus) wurden elektronenmikroskopisch untersucht. Die Längenverteilungspolygone der starren und recht fragilen Partikeln waren stets zweigipflig (Maxima bei 180 und 70 mμ), die Dicke betrug einheitlich 20 mμ. Gesicherte Größenunterschiede zwischen den Teilchen der drei Stämme waren nicht vorhanden; ob Verschiedenheiten in der Brüchigkeit der Partikeln bestehen, ließ sich nicht mit Sicherheit feststellen. Zum Schluß werden die abweichenden Ergebnisse von VAN DER WANT und ROZENDAAL mit den eigenen verglichen und eine Deutung der Unterschiede versucht.

Literaturverzeichnis

Bode, O., und Paul, H. L., 1955: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über Kartoffel-Viren. I. Vermessungen an Teilchen des Kartoffel-X-Virus. Biochim. et Biophys. Acta **16**, 343—345.

Johnson, J., 1951: Virus particles in various plant species and tissues. Phytopathology **41**, 78—93.

Köhler, E., 1952: Über ein in *Sonchus arvensis* (Ackergänsedistel) angetroffenes Virus. Jb. 1951 d. Biol. Bundesanst. Braunschweig, 34.

Rozendaal, A., und van der Want, J. P. H., 1948: Over de identiteit van het Ratelvirus van de Tabak en het Stengelbontvirus van de Aardappel. T. over Plantenziekten **54**, 113—133.

Schramm, G., 1954: Die Biochemie der Viren. Springer, Berlin.

Want, J. P. H. van der, und Rozendaal, A., 1948: Electronen-microscopisch onderzoek van het virus, dat de Ratelziekte van de Tabak en het Stengelbont van de Aardappel veroorzakt. T. over Plantenziekten **54**, 134—141.

Williams, R. C., 1953: The shapes and sizes of purified viruses as determined by electron microscopy. Cold Spring Harbour Symposia, Quant. Biol. **18**, 185—195.

Besprechungen

Scharrer, K.: Biochemie der Spurenelemente. 3. Aufl. 412 S. mit 8 farb. Tafeln — DM 39,60. Verlag Paul Parey, Berlin u. Hamburg 1955.

Das Gebiet der Spurenelemente hat heute bereits einen derartigen Umfang angenommen, daß es sogar für den fachlich Interessierten schwer wird, die Gesamtübersicht über die in den Zeitschriften verschiedenster Fachrichtungen verstreuten Arbeiten zu behalten bzw. einen Überblick zu gewinnen. Sehr zahlreiche Fachgebiete sind heute lebhaft an dem Problem der Spurenelemente interessiert: in der Bodenkunde ist die Frage ihres Vorkommens nach Menge, Form und Löslichkeit in den verschiedenen Böden ebenso bedeutungsvoll wie in der Ernährungsphysiologie die Frage nach ihrer Rolle im Stoffwechsel von Pflanze, Tier und Mensch. Die bei unzureichender Versorgung auftretenden Entwicklungsstörungen beanspruchen als Mangelkrankheiten in gleicher Weise größte Aufmerksamkeit in der Pathologie der Pflanzen, der Tiere und des Menschen.

Die „Biochemie der Spurenelemente" ist das einzige deutschsprachige zusammenfassende Werk auf diesem weiten Gebiet, das nunmehr in seiner dritten Auflage vorliegt. Die Neuauflage ist umsomehr zu begrüßen, als gerade in den Kriegs- und Nachkriegsjahren im Ausland manche Fortschritte erzielt worden sind, die uns nun leichter zugänglich gemacht sind. Im Aufbau ist die Bedeutung der Spurenelemente in der Pflanzen- und Tierernährung getrennt abgehandelt. Entsprechend den früheren Auflagen beschränkt sich die „Biochemie" dabei nicht auf die bis heute als lebensnotwendig erkannten Spurenelemente, sondern umfaßt auch alle jene Elemente, deren Vorkommen in Pflanze, Tier und Boden festgestellt worden ist. So sind in dem Abschnitt „Boden und Pflanze" die wichtigsten Versuchs- und Untersuchungsergebnisse über 34 Elemente (Aluminium bis Zirkonium), in dem Abschnitt „Tierernährung und menschliche Ernährung" unsere Kenntnisse über 24 Spurenelemente in referierender Form zusammengetragen. Im Anschluß an jeden dieser Hauptabschnitte ist das Schrifttum über die einzelnen Elemente getrennt aufgeführt. Es umfaßt über Bor allein 528, Mangan 313, Kupfer 276, Zink 174 und über Molybdän bereits 94 Hinweise, die in der Reihenfolge ihrer Besprechung zusammengestellt sind, so daß das Aufsuchen etwas erleichtert wird.

Die „Biochemie der Spurenelemente" ist kein Lehrbuch im üblichen Sinne, sondern trägt den Charakter einer referierenden Zusammenstellung der Vielzahl von Einzelbeobachtungen und -ergebnissen. Dadurch wird die Herausstellung der Hauptergebnisse der einzelnen Untersucher zwar in umfassender Form ermöglicht, der Leser vermißt jedoch vor allem bei den wichtigen Spurenelementen wie Bor, Mangan, Kupfer, Zink und Molybdän eine Verarbeitung und Ordnung des Stoffes nach gewissen Gesichtspunkten. So würde z. B. für die Belange des Phytopathologen eine vergleichende Darstellung der Mangelsymptome der einzelnen Elemente bei den verschiedenen Kulturpflanzen sehr erwünscht sein oder eine zusammenhängende Behandlung der Versuchsergebnisse über die Rolle dieser Elemente im Stoffwechsel der Pflanzen, sowie über die Praxis der Anwendung. Bei der Breite des Gesamtgebietes und den z. T. noch lückenhaften Kenntnissen dürfte es jedoch für den Verfasser schwierig sein, hier allen Wünschen gerecht zu werden.

Die Ausstattung des Werkes mit acht farbigen Tafeln mit Abbildungen von Bormangel an Rüben, Spinat, Sonnenblumen, Tomaten und Mais, von Manganmangel an Mais und Tomaten, von Kupfermangel an Hafer und Tomate sowie Molybdänmangel an Blumenkohl stellen eine sehr wertvolle Bereicherung des Werkes dar. Leider enttäuscht die Qualität der Bilder etwas, so daß ihr Wert für die Belange des Phytopathologen als Hilfsmittel in der Diagnose geschmälert wird. Von diesen Sonderwünschen abgesehen ist die neue „Biochemie" jedoch ein ausgezeichnetes Quellenwerk, das die Fülle der gesammelten Erkenntnisse auf dem Gebiet der Spurenelemente in umfassender Weise darstellt.

BRANDENBURG, Gießen

Folgende Arbeiten werden in den nächsten Heften der

PHYTOPATHOLOGISCHEN ZEITSCHRIFT

erscheinen

BARTELS, R., Serologische Untersuchungen über die Konzentration des X-Virus in Kartoffelstauden während der Vegetationsperiode.

BARTELS, W., Untersuchungen über die Inaktivierung des Tabakmosaikvirus durch Extrakte und Sekrete von höheren Pflanzen und einigen Mikroorganismen.

BRUHN, CH., Untersuchungen über die *Fusarium*-Krankheit der Gladiolen.

MÜLLER, E., und v. ARX, J. A., Einige Beiträge zur Systematik und Synonymie der Pilze.

GÄUMANN, E., NAEF-ROTH, ST., und KERN, H., Über die chelierende Wirkung einiger Welketoxine.

BROD, G., Studien über *Cercospora mercurialis* Passer in Hinblick auf eine biologische Bekämpfung des Schutt-Bingelkrautes (*Mercurialis annua* L.).

FLÜCK, V., und RICHLE, K. H., Papierchromatographische Untersuchungen über den Aminosäuren-Stoffwechsel von *Fusarium lycopersici* Sacc.

BLUMER, S., STALDER, L., und HARDER, A., Über die gegenseitigen Beziehungen zwischen Gurkenmosaik und Gurkenmehltau.

BERCKS, R., Virusgehalt von Tabakpflanzen bei Mischinfektionen durch Kartoffel-X- und -Y-Virus.

CHRISTIANSEN, EVA-CHRISTIANE, Versuche zur stoffwechselphysiologischen Beeinflussung der Reaktion der Kartoffelknolle auf *Phytophthora infestans* de By.

SĂVULESCU, T., Die physiologischen Rassen von *Tilletia foetida* (Bauer) Liro in der Rumänischen Volksrepublik.

SCHÖNIGER, GUDRUN, und BAUER, R., Erdbeervirosen in Deutschland. I. Befund nach Pfropfung verschiedener Sorten auf *Fragenia vesca* L.

Soeben erschien:

Die Symptomatologie der Fusarium-Welke der Gurken (*Cucumis sativus* L.) und ihr Verhältnis zu den Welkekrankheiten anderer Pflanzen

Von Dr. W. KOSSWIG

147 Seiten mit 45 Abbildungen und 8 Tabellen, ganz auf Kunstdruck, kartoniert DM 14,—

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Das bedeutende Standardwerk

HANDBUCH DER LANDWIRTSCHAFT

In fünf Bänden

Unter Mitwirkung von 57 Wissenschaftlern

herausgegeben von den Professoren

Th. ROEMER †	A. SCHEIBE	J. SCHMIDT	E. WOERMANN
Halle/S.	Gießen	Hohenheim	Göttingen

I. Band: **Ackerbaulehre**
654 Seiten mit 130 Textabbildungen

II. Band: **Pflanzenbaulehre**
794 Seiten mit 184 Textabbildungen

III. Band: **Allgemeine Tierzuchtlehre**
443 Seiten mit 82 Textabbildungen

IV. Band: **Besondere Tierzuchtlehre**
548 Seiten mit 245 Textabbildungen

V. Band: **Wirtschaftslehre des Landbaues**
792 Seiten mit 34 Textabbildungen

Ladenpreis: In Ganzleinen DM 296,—
Bei Ratenzahlung: In Ganzleinen DM 325,—
Einzel-Bände des Werkes werden nicht abgegeben

Das „Handbuch der Landwirtschaft" ist das umfassendste deutsche Werk der Landwirtschaft, das in der Qualität seines Inhalts und seiner erstklassigen Ausstattung nicht seinesgleichen hat. Es gibt eine vollständige, allgemeinverständlich gehaltene, systematische Einführung zur erfolgreichen Führung eines landwirtschaftlichen Betriebes, die auf den neuesten wissenschaftlichen Forschungen und praktischen Erfahrungen des In- und Auslandes beruht.

„Die Landwirtschaft hat durch die freudige Aufnahme, die sie dem Werk bereitet hat, gezeigt, daß sie ein solches Werk zu schätzen weiß, das ihr in wissenschaftlicher Vollständigkeit, in einer der Praxis entsprechenden, leicht eingehenden Darstellung und einer vorbildlichen Ausstattung die technischen und wirtschaftlichen Grundlagen ihrer Berufsarbeit vermittelt. ... Das Werk bedeutet einen bisher nicht erreichten Gipfel der Landwirtschaftslehre."
Agrarbibliographie

„Im ganzen gesehen stellt das Werk ein von der gesamten Landwirtschaft sehnlich erwartetes Ereignis dar, das von der Praxis, Wissenschaft und nicht zuletzt von den Studierenden freudig begrüßt wird ... Es wird aber auch zum Guten des deutschen Namens seinen Weg in die Landwirtschaft der ganzen Welt finden zum Wohle des Fortschritts."
Deutsche Landwirtschaftliche Presse

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Verlag Paul Parey, (1) Berlin SW 68, Lindenstr. 44-47, Tel. 61 44 68/69. Herausgeber: Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2, Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. Richter, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Straße 19. Printed in Germany. Druck von A. W. Hayn's Erben, Berlin SO 36. Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe, vorbehalten. — Erscheinungsweise: Jährlich etwa 8 Hefte (4 Hefte = 1 Band).